

**T.C.  
İSTANBUL AYDIN ÜNİVERSİTESİ  
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ**



**İSTANBUL'DA TOPLANAN ÇİĞ MIDYE NUMUNELERİNDE  
MİKROPLASTİK KİRLİLİĞİNİN ARAŞTIRILMASI**

**DOKTORA TEZİ**

**Faruk GALYON**

**Gıda Güvenliği ve Beslenme Anabilim Dalı  
Gıda Güvenliği Programı**

**TEMMUZ, 2023**



T.C.  
İSTANBUL AYDIN ÜNİVERSİTESİ  
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ



İSTANBUL'DA TOPLANAN ÇİĞ MİDYE NUMUNELERİNDE  
MİKROPLASTİK KİRLİLİĞİNİN ARAŞTIRILMASI

DOKTORA TEZİ

Faruk GALYON  
(Y1813.710002)

Gıda Güvenliği ve Beslenme Anabilim Dalı  
Gıda Güvenliği Programı

Tez Danışmanı: Dr. Öğr. Üyesi Ayla ÜNVER ALÇAY

TEMMUZ, 2023







## ONUR SÖZÜ

Doktora Tezi olarak sunduğum “İstanbul'da toplanan çiğ midye numunelerinde mikroplastik kirliliğinin araştırılması” adlı çalışmanın, tezin proje safhasından sonuçlanmasına kadarki bütün süreçlerde bilimsel ahlak ve geleneklere aykırı düşecek bir yardıma başvurulmaksızın yazıldığını ve yararlandığım eserlerin Kaynakça ‘da gösterilenlerden olduğunu, bunlara atıf yapılarak yararlanılmış olduğunu belirtir ve onurumla beyan ederim. (Temmuz, 2023)

Faruk GALYON





## ÖNSÖZ

Bu doktora tez çalışmasının hazırlık sürecinde bana yardımcı olan herkese teşekkür etmek istiyorum. Geçen 8 yıl boyunca parçası olduğum İstanbul Aydın Üniversitesi büyük ailesine, özellikle numune işlenmesi ve analizi sırasında bana gerekli desteği sağlayan Gıda Teknolojisi laboratuvarından Sayın Seda ŞİMŞEK KİRAZ, Sağlık Bilimleri Fakültesinden Sayın Batuhan TİLKLİ ve Sayın Özlem TÜRKSEROĞLU ve diğer tüm hocalarım ve arkadaşlarıma samimi teşekkürlerimi sunmak istiyorum. Ayrıca, ihtiyaç olduğunda her zaman gerekli tavsiye ve desteği vermekten asla çekinmeyen değerli tez danışmanım Sayın Dr. Ayla ÜNVER ALÇAY, tezin hazırlanmasında ve izlenmesinde yanımda olmaktan onur duyduğum Sayın hocalarım Prof. Dr. Candan VARLIK ve Prof. Dr. Nuray ERKAN ÖZDEN en içten teşekkür etmek istiyorum. Son olarak, akademik hayatım boyunca her adımda bana destek olan başta babam olmak üzere sevgili aileme ve eşime en içten teşekkürlerimi sunarım.

Temmuz, 2023

Faruk GALYON



# İSTANBUL'DA TOPLANAN ÇİĞ MİDYE NUMUNELERİNDE MİKROPLASTİK KİRLİLİĞİNİN ARAŞTIRILMASI

## ÖZET

Günümüzde, plastik malzemeler günlük hayatımızın her alanında kullanılmaktadır. Faydaları yadsınamaz olsa da plastik malzemelerin yaygın olarak kullanılması, çevrede birikmelerinin kaçınılmaz sonucuna yol açacaktır. Küresel plastik üretiminin şu anda yılda 320 milyon tonu aştığı, bunun %40'ından fazlasının tek kullanımlık ambalaj olarak kullanıldığı ve bunun sonucunda plastik atıklara neden olduğu tahmin edilmektedir. Buna ek olarak, plastik üretiminin önümüzdeki gelecekte artmaya devam etmesi ve 2025 yılına kadar üretim seviyelerinin iki katına çıkması beklenmektedir. Plastik atıkların küçük bir bölümünün geri dönüşümle ortadan kaldırılmasına rağmen, çoğu çöplüklerde son bulmakta ve orada parçalanmaları birkaç yüz yıl sürebilmektedir. Mikroplastikler, en büyük boyut ölçüsü 5 mm veya daha az olan plastik parçacıklar; nanoplastikler de en uzun boyutsal ölçüsü 100 nanometre (nm) veya daha az olan plastik parçacıklar olarak tanımlanmaktadır. Birincil mikro- ve nanoplastikler, belirtilen boyut aralığında üretilen plastik maddelerdir. İkincil mikro- ve nanoplastikler ise daha büyük plastik parçaların bozulması ve parçalanmasının sonucunda ortaya çıkan parçacıklardır. Bu çalışmada İstanbul kıyılarından toplanan midyelerde mikroplastik kirlilik düzeylerinin değerlendirilmesi amaçlanmaktadır. Midye örnekleri İstanbul'un Sarıyer ilçesinde bulunan midye satış yerlerinden alınmıştır. Numune baz muamelesi için %10 KOH protokolü kullanılmıştır. Elde edilen mikroplastiklerin polimer türü ATR FTIR yöntemi kullanılarak doğrulanmıştır. Analiz edilen 30 alt-numuneden 22'si (%73,33) mikroplastik içerdiği ispatlanmıştır. 30 alt-numunede toplam 60 mikroplastik tespit edilmiştir. Midye gram başına mikroplastik kirlilik düzeyi 0,13 parçacık, adet başına ise 0,5 parçacık olarak hesaplanmıştır. En yaygın saptanan mikroplastik polimer türü poliamit (PA) %38,33 olmuştur. Filmler (%43,33) en çok rastlanan mikroplastik şekli, <1000 µm en çok rastlanan boyut grubu olduğu bulunmuştur. Bu çalışma sonuçları İstanbul Boğazı'nda mikroplastik kontaminasyonunun yaygın olduğunu

doğrulamaktadır. Bu çalışmada elde edilen sonuçlar çok yüksek olmasa da dünya çapında sürekli artan plastik üretimi ve kirlilik seviyeleri gz nnde bulundurulduğunda, durumun gelecekte daha da kt olabileceğine inanılmaktadır.

**Anahtar kelimeler:** Midye, Mikroplastik, FTIR

# **RESEARCH ON MICROPLASTIC CONTAMINATION IN MUSSELS COLLECTED IN ISTANBUL**

## **ABSTRACT**

Nowadays plastic materials are available in almost every aspect of our everyday life. While their benefits are undeniable, the widespread use of plastic materials, especially in discardable form, such as packaging materials, will ultimately lead to the inevitable result of their accumulation in the environment. It is estimated that the global production of plastics currently exceeds 320 million tonnes per year, over 40% of which is used as single-use packaging, resulting in plastic waste. Additionally, production of plastics is expected to continue to increase in the upcoming future and by the year 2025, production levels are anticipated to be doubled. Even though a small part of plastic waste is eliminated by recycling, most of it ends up in landfills, where they may take a few hundred years to decompose. Microplastics can be defined as plastic particles with the longest dimensional measure of 5 mm or less. Accordingly, nanoplastics can also be defined as plastic particles with the longest dimensional measure of 100 nanometers (nm) or less. Primary micro- and nanoplastics are plastic items that are manufactured within the mentioned size range. Secondary micro- and nanoplastics on the other hand are particles that are the result of the degradation and fragmentation of larger plastic items. In the current study, it is aimed to assess the levels of microplastic pollution in mussels collected from Istanbul shores. The mussel samples were collected from mussel selling shops in the Sariyer district of Istanbul. 10% KOH protocol was used for sample base treatment. The polymer type of the obtained microplastics was confirmed using ATR FTIR method. Out of the 30 sub-samples analyzed, 22 sub-samples (73.33%) contained microplastics. In the 30 sub-samples analyzed, a total of 60 microplastics were detected. Microplastic pollution levels were calculated as 0.13 particles/gram of mussel tissue and 0.5 particles/individual. The most detected microplastic polymer type was polyamide (PA) 38%. Films (43.33%) were found to be the most common form of microplastic, with <1000  $\mu\text{m}$  being the most common size group. The results of this study confirm that

microplastic contamination is common in the Bosphorus in Istanbul. Even though the results found in this study are not very high, when considering the continuously increasing plastic production and contamination levels worldwide, it is believed that the situation can become worse in the upcoming future.

**Keywords:** Mussel, Microplastic, FTIR

## İÇİNDEKİLER

ONUR SÖZÜ .....	iii
ÖNSÖZ .....	v
ÖZET .....	vii
ABSTRACT .....	ix
İÇİNDEKİLER .....	xi
ŞEKİLLER LİSTESİ .....	xiii
ÇİZELGELER LİSTESİ .....	xvii
KISALTMALAR LİSTESİ .....	xix
<b>I. GİRİŞ .....</b>	<b>1</b>
<b>II. GENEL BİLGİLER .....</b>	<b>5</b>
A. Dünyada Plastik Kirliliği .....	7
1. Plastik Üretimi .....	7
2. Mikroplastik Kimyasal ve Mikrobik Kontaminasyonu .....	9
B. Mikroplastik Kontaminasyonunun Sağlık Üzerindeki Etkisi .....	11
1. Mikroplastik Kirliliği ve Gıda Güvenliği .....	11
2. Deniz Ürünlerinin Küresel Tüketimi .....	12
3. İnsan Sağlığı Üzerindeki Etkileri .....	13
4. Mikroplastik Alınımı, Translokasyonu, Emilimi ve Dağıtımı ....	13
<b>III. MİKROPLASTİK ANALİZ YÖNTEMLERİ .....</b>	<b>17</b>
A. Mikroplastik İzolasyonu .....	17
B. Görsel Saptama ve Ayırma .....	18
C. Plastik Polimer Türü Tanımlanması .....	19
1. Kızılötesi Spektroskopisi.....	19
2. Raman Spektroskopisi .....	23
3. Piroliz Gaz Kromatografisi/Kütle Spektrometrisi (Py-GC/MS)...	24
<b>IV. YAPILAN ÇALIŞMALAR .....</b>	<b>27</b>
<b>V. MATERYAL VE METOT .....</b>	<b>35</b>
A. Materyal .....	35
1. Midye Örnekleri .....	35

2. Kullanılan Kimyasal Maddeleri .....	35
3. Kullanılan Laboratuvar Cihazları .....	35
4. Diğer Gereçler .....	36
B. Metot .....	36
1. Metot Validasyonu .....	36
a. Baz muamelesi işleminin validasyonu.....	37
b. Yoğunluk ayırımı işleminin validasyonu.....	39
c. FTIR metot validasyonu .....	42
i. Validasyon parametrelerin hesaplaması.....	43
ii. Hassasiyet (SE).....	43
iii. Doğruluk (RA).....	43
iv. Özgüllük (SP).....	44
v. Gözlenen ve beklenen sonuçların uyumu.....	44
vi. Minimum tespit sınırı (LOD).....	46
vii. Karışık numune çalışması .....	46
2. Örnekleme .....	48
3. Numune Taşıma ve Saklama .....	49
4. Laboratuvar Hazırlığı .....	49
5. Negatif Kontrol .....	50
6. Numune Muamelesi .....	50
a. Baz muamelesi .....	54
b. Yoğunluk ayırımı .....	56
7. Mikroskopik İnceleme .....	66
8. Polimer Tanımlama .....	67
<b>VI. BULGULAR .....</b>	<b>69</b>
<b>VII. TARTIŞMA VE SONUÇ .....</b>	<b>77</b>
<b>VIII. KAYNAKÇA .....</b>	<b>89</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ.....</b>	<b>101</b>



## ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1 Dünya plastik üretiminin evrimi.....	7
Şekil 2 2021'de küresel plastik üretiminin dağılımı.....	8
Şekil 3 FT-MIR Spektrometresinin prensibi.....	22
Şekil 4 ATR FT-MIR prensibi.....	22
Şekil 5 Çin'de balıkçılık pazarından çift kabuklularında bulunan farklı mikroplastik türleri (A-C) Fibriller; (D-F) Parçacıklar; (G-I) Peletler.....	28
Şekil 6 <i>Mytilus galloprovincialis</i> midyesinin görünümü.....	35
Şekil 7 Midye organları.....	36
Şekil 8 Filtreleme işlemi.....	38
Şekil 9 Elde edilen filtreler.....	39
Şekil 10 NaI çözelti hazırlaması.....	40
Şekil 11 Alt numune 1.....	41
Şekil 12 Alt numune 2.....	41
Şekil 13 Alt numune 3.....	41
Şekil 14 Alt numune 4.....	41
Şekil 15 PET spektrumu.....	47
Şekil 16 PE spektrumu.....	47
Şekil 17 PP spektrumu.....	47
Şekil 18 PVC spektrumu.....	48
Şekil 19 Karışık numune analizi (PET ve PP).....	48
Şekil 20 Örnekleme.....	49
Şekil 21 Midye diseksiyonu.....	54
Şekil 22 Baz muamelesi işlemi.....	55
Şekil 23 Baz muamelesi işlemi.....	55
Şekil 24 Elde edilen sindirim ürünü.....	55
Şekil 25 Filtreleme işlemi.....	56
Şekil 26 Yoğunluk ayırımı işlemi.....	56
Şekil 27 Sonikasyon ve çalkalama işlemleri.....	57
Şekil 28 Santrifüjleme işlemi.....	57

Şekil 29 Santrifüjlemeden sonra toplanan süpernatantlar.....	58
Şekil 30 Alt numune 1.....	58
Şekil 31 Kontrol 1.....	58
Şekil 32 Alt numune 2.....	58
Şekil 33 Kontrol 2.....	58
Şekil 34 Alt numune 3.....	59
Şekil 35 Kontrol 3.....	59
Şekil 36 Alt numune 4.....	59
Şekil 37 Kontrol 4.....	59
Şekil 38 Alt numune 5.....	59
Şekil 39 Kontrol 5.....	59
Şekil 40 Alt numune 6.....	59
Şekil 41 Kontrol 6.....	59
Şekil 42 Alt numune 7.....	60
Şekil 43 Kontrol 7.....	60
Şekil 44 Alt numune 8.....	60
Şekil 45 Kontrol 8.....	60
Şekil 46 Alt numune 9.....	60
Şekil 47 Kontrol 9.....	60
Şekil 48 Alt numune 10.....	60
Şekil 49 Kontrol 10.....	60
Şekil 50 Alt numune 11.....	61
Şekil 51 Kontrol 11.....	61
Şekil 52 Alt numune 12.....	61
Şekil 53 Kontrol 12.....	61
Şekil 54 Alt numune 13.....	61
Şekil 55 Kontrol 13.....	61
Şekil 56 Alt numune 14.....	61
Şekil 57 Kontrol 14.....	61
Şekil 58 Alt numune 15.....	62
Şekil 59 Kontrol 15.....	62
Şekil 60 Alt numune 16.....	62
Şekil 61 Kontrol 16.....	62
Şekil 62 Alt numune 17.....	62

Şekil 63 Kontrol 17.....	62
Şekil 64 Alt numune 18.....	62
Şekil 65 Kontrol 18.....	62
Şekil 66 Alt numune 19.....	63
Şekil 67 Kontrol 19.....	63
Şekil 68 Alt numune 20.....	63
Şekil 69 Kontrol 20.....	63
Şekil 70 Alt numune 21.....	63
Şekil 71 Kontrol 21.....	63
Şekil 72 Alt numune 22.....	63
Şekil 73 Kontrol 22.....	63
Şekil 74 Alt numune 23.....	64
Şekil 75 Kontrol 23.....	64
Şekil 76 Alt numune 24.....	64
Şekil 77 Kontrol 24.....	64
Şekil 78 Alt numune 25.....	64
Şekil 79 Kontrol 25.....	64
Şekil 80 Alt numune 26.....	64
Şekil 81 Kontrol 26.....	64
Şekil 82 Alt numune 27.....	65
Şekil 83 Kontrol 27.....	65
Şekil 84 Alt numune 28.....	65
Şekil 85 Kontrol 28.....	65
Şekil 86 Alt numune 29.....	65
Şekil 87 Kontrol 29.....	65
Şekil 88 Alt numune 30.....	65
Şekil 89 Kontrol 30.....	65
Şekil 90 Mikroskopik inceleme.....	66
Şekil 91 Mikroskopik inceleme.....	66
Şekil 92 Polimer tanımlama (ATR-FTIR).....	67
Şekil 93 Tespit edilen bazı mikroplastiklerin görüntüleri.....	69
Şekil 94 Tespit edilen mikroplastiklerin polimer türüne göre dağılımı.....	72
Şekil 95 Alt-numune 6 - Fragman 1 - FTIR spektrumu.....	72
Şekil 96 Alt-numune 6 - Fragman 1 - FTIR analiz sonucu HDPE.....	73

Şekil 97 Alt-numune 15 - Fibril 2 - FTIR spektrumu.....	73
Şekil 98 Alt-numune 15 - Fibril 2 - FTIR analiz sonucu PET.....	73
Şekil 99 Saptanan mikroplastiklerin şekle göre dağılımı.....	74
Şekil 100 Tespit edilen mikroplastiklerin boyuta göre dağılımı.....	75

## ÇİZELGELER LİSTESİ

Çizelge 1	Deniz ortamında bulunan plastiklerin yoğunlukları ve yaygın uygulamaları.....	6
Çizelge 2	İnsanlarda ve diğer memelilerde mikroplastik translokasyonu gösteren çalışmalar.....	14
Çizelge 3	Partikül boyutuna dayalı olarak memelilerde mikro ve nanoplastiklerin akıbeti.....	16
Çizelge 4	Avantajlarına, dezavantajlarına ve sınırlarına göre, mikroplastiklerin analizi için ortak FT-MIR teknikleri ve aksesuarları.....	21
Çizelge 5	Ön-çalışmada işlenen midye bilgileri.....	37
Çizelge 6	Eklenen mikroplastik miktarı.....	37
Çizelge 7	Baz muamelesinden sonra geri kazanım oranı.....	39
Çizelge 8	Numune sindiriminden sonra geri kazanım oranı.....	41
Çizelge 9	Pozitif ve negatif kontrolü için yapılan 16 taramanın sonuçları.....	43
Çizelge 10	Midye bilgileri / Alt-numune 1-10.....	51
Çizelge 11	Midye bilgileri / Alt-numune 11-20.....	52
Çizelge 12	Midye bilgileri / Alt-numune 21-30.....	53
Çizelge 13	Elde edilen mikroplastiklerin özellikleri / Alt-numune 1-12.....	70
Çizelge 14	Elde edilen mikroplastiklerin özellikleri / Alt-numune 13-30.....	71



## KISALTMALAR LİSTESİ

<b>AB</b>	: Avrupa Birliği
<b>ABD</b>	: Amerika Birleşik Devletler
<b>ABS</b>	: Akrilonitril Butadiyen Stiren
<b>ATR</b>	: Azaltılmış Toplam Reflektans
<b>CP</b>	: Selofan
<b>DDT</b>	: Diklorodifeniltrikloroetan
<b>EFSA</b>	: Avrupa Gıda Güvenliği Kurumu
<b>FAO</b>	: Gıda ve Tarım Örgütü
<b>FTIR</b>	: Fourier Transform Kızılötesi Spektroskopisi
<b>FT-MIR</b>	: Fourier Transform Orta Kızılötesi
<b>GC</b>	: Gaz Kromatografisi
<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	: Hidrojen Peroksit
<b>HOC</b>	: Hidrofobik Organik Bulaşanları
<b>IUPAC</b>	: Uluslararası Temel ve Uygulamalı Kimya Birliği
<b>İAÜ</b>	: İstanbul Aydın Üniversitesi
<b>KBr</b>	: Potasyum Bromür
<b>KOH</b>	: Potasyum Hidroksit
<b>LDPE</b>	: Düşük Yoğunluklu Polietilen
<b>LOD</b>	: Minimum Tespit Sınırı
<b>MIR</b>	: Orta Kızılötesi
<b>mm</b>	: Milimetre
<b>MS</b>	: Kütle Spektrometrisi
<b>MSFD</b>	: Deniz Strateji Çerçeve Yönergesi
<b>NaCl</b>	: Sodyum Klorür
<b>NaI</b>	: Sodyum İyodür
<b>ng</b>	: Nanogram
<b>nm</b>	: Nanometre
<b>PA</b>	: Poliamit
<b>PAH</b>	: Polisiklik Aromatik Hidrokarbonlar

<b>PBT</b>	: Kalıcı Biyoakümülatif Toksinler
<b>PCB</b>	: Poliklorlu Bifeniller
<b>PE</b>	: Polietilen
<b>PES</b>	: Polyester
<b>PET</b>	: Polietilen Tereftalat
<b>PMMA</b>	: Polimetilakrilat
<b>POP</b>	: Kalıcı Organik Kirleticileri
<b>PP</b>	: Polipropilen
<b>PS</b>	: Polistiren
<b>PU</b>	: Poliüretan
<b>PVA</b>	: Polivinil Alkol
<b>PVC</b>	: Polivinil Klorür
<b>Py-GC/MS</b>	: Piroliz Gaz Kromatografisi/Kütle Spektrometrisi
<b>RA</b>	: Doğruluk
<b>SD</b>	: Standard Sapma
<b>SE</b>	: Hassasiyet
<b>SP</b>	: Özgüllük
<b>UPVC</b>	: Plastikleştirici Katılmamış Polivinilklorür
<b>USA</b>	: United States of America
<b>vs.</b>	: Ve saire
<b>ZnCl<sub>2</sub></b>	: Çinko Klorür
<b>μ-FTIR</b>	: mikro-Fourier Transform Kızılötesi Spektroskopisi
<b>μm</b>	: Mikron (mikrometre)



## I. GİRİŞ

Plastikler, yumuşakken kalıplanabilen ve daha sonra çok sert veya hafif elastik bir forma ayarlanabilen çok sayıda yarı sentetik veya sentetik organik bileşikten yapılmış malzemelerdir. Uluslararası Temel ve Uygulamalı Kimya Birliği (IUPAC), kapsamlı bir ifade olarak plastikleri 'performansı artırmak ve/veya maliyetleri azaltmak için başka maddeler içerebilen polimerik malzeme' olarak tanımlamaktadır (Da Costa et al., 2017).

İlk geliştirildikleri 1800'lerden bu yana, plastikler, ulaşım, sağlık ve ürün korunması gibi birden fazla üretim alanında yarar sağlanıp, dijital çağın ilerlemesine katkıda bulunmuş ve şu anda günlük yaşamın ayrılmaz bir parçası haline gelmiştir. Plastikler, paketleme, yapı ve inşaat, ulaşım, tıp ve sağlık, spor ve eğlence, elektronik, tarım, tasarım, üretim ve para dahil olmak üzere toplumun hemen hemen her alanında kullanılmaktadır. Teknolojik gelişmeleri, tasarım çözümleri, eko-performans iyileştirmeleri ve parasal tasarrufları plastik sayesinde sağlanmıştır. Nitekim plastikler, düşük maliyet, sağlamlık, dayanıklılık, hasar toleransı ve elektrik ve ısı yalıtımı gibi pratik özellikleri nedeniyle, hayatımızı daha rahat, daha güvenli ve daha zevkli hale getirmiştir. Ancak bu nitelikler uygunsuz atık yönetimi ile birleştiğinde karada, tatlı sularında ve deniz ortamlarında çevre kirliliğine yol açmaktadır. Güneş ışığının ultraviyole radyasyonu ve yüksek sıcaklıklar gibi dış etkilere maruz kaldığında, plastik malzemeler zamanla yavaş yavaş ve kademeli olarak parçalanacaktır. Plastik malzemelerinin parçalanması, daha küçük boyut aralıklarına bölünmesine, makroskobikten mikroskobik düzeye inmesine ve nihayetinde şu anda saptanamayan nanoplastiklere ulaşmasına neden olmaktadır (Lusher et al., 2017a).

Mikroplastikler, 5 mm'den küçük parçacıklardır. Bu tanım pratik açıdan benimsenmiştir, çünkü çok sayıda sucul organizma, avlarını bu boyut aralığı altında tüketmektedir. Mikroplastikler iki ana gruba ayrılabilir. Birincil mikroplastikler, 5 mm'den daha küçük çapında üretilmiş plastik parçacıklardır. Bunlar şunları içerir: (1) plastik üretiminde hammadde olarak kullanılan, genellikle 3-5 mm çapında olan üretim öncesi reçine topakları; (2) kozmetik ürünlerde bulunan mikro

boncuklar ve (3) yüzeylerin aşındırıcı raspası için kullanılan boncuklar. Öte yandan, ikincil mikroplastikler, çevredeki daha büyük plastiklerin parçalanması ve yıpranmasının yan ürünüdür (GESAMP, 2015).

Mikroplastikler, türleri farklı trofik seviyelerinde etkileyebilir ve maruz kalma çeşitli şekillerde meydana gelebilmektedir. Mikroplastikler ve diğer türler arasındaki en olası etkileşim yöntemi yemedir. Mikroplastiklerin kompakt boyutu, onları gerçek avla karşılaştırıldığında belirsiz olmalarına neden olabilir, tanınmasını zorlaştırabilir ve sonuçta filtre besleme işlemi sırasında yanlışlıkla yutulmalarına yol açmaktadır (Lusher, 2015). Midye gibi filtrasyonla beslenenlerde mikroplastik yutma yaygındır (Avio et al., 2015). Bu yeme eğilimi, hayvanın mikroplastikleri ve yiyecekleri ayırt etme yeteneğinin olmamasından kaynaklanmaktadır. Aslında araştırma bulgularına göre, sucul habitatlarındaki mikroplastikler, deniz ürünleri ağlarında temel koku verici olarak hizmet eden bir dimetil sülfid parmak izi geliştirirler. Dolayısıyla, bazı deniz canlıları kasıtlı olarak mikroplastikleri arayıp tüketebilmektedirler (Savoca et al., 2016).

Hidrofobik yüzeyleri nedeniyle mikroplastikler, polisiklik aromatik hidrokarbonlar (PAH), organoklorlu pestisitler ve poliklorlu bifeniller (PCB) gibi hidrofobik organik bulaşanları (HOC) yüksek derecede adsorbe edip konsantre edebilmektedirler. Ayrıca kadmiyum, çinko, nikel ve kurşun gibi ağır metalleri de biriktirebilirler. Bu nedenle mikroplastikler, potansiyel olumsuz sağlık etkileri nedeniyle Stockholm Sözleşmesi'nde listelenen bu öncelikli bulaşanlar için vektörler olarak kabul edilmektedir (Wright and Kelly, 2017).

Mikroplastikler, plastik ürünlerin imalatı sırasında dahil olmaları nedeniyle endojen kimyasal katkı maddeleri içerebilmektedirler. Bu katkı maddeleri plastik polimer matrikse kimyasal olarak bağlı olmadıklarından dolayı, dış ortama sızmaya karşı hassastırlar. Mikroplastikler parçalanmaya devam ederken, içsel kimyasalların mikroplastiklerin yüzeyine sürekli göç etme potansiyeli vardır. Bu tür kirleticiler, yutulduğunda serbest bırakılabilir ve çevredeki dokuya geçebilir. Birikme kapasitesine sahiplerse ve süzmek için herhangi bir katkı maddesi kalmışsa, mikroplastikler dokulara ve sıvılara potansiyel bir kimyasal kaynağı sunmaktadırlar. Sürekli artan küresel plastik kontaminasyonuna bakıldığında, çevredeki mikroplastik miktarının artması muhtemeldir. İnsanların mikroplastiklere ve bunlarla ilişkili kirleticilere maruz

kalmasının mümkün olduğunu gösteren kanıtlar göz önüne alındığında, bunların insan sağlığına yönelik risklerini değerlendirmek önemlidir (Wright and Kelly, 2017).

Bu alışmada İstanbul Sarıyer İlçesi'nden midye satış yerlerinden toplanan midye numunelerinde mikroplastik kirliliğini araştırılmıştır. Çalışmamız İstanbul'da satılan midyelerde mikroplastik kirlilik düzeylerinin daha iyi anlaşılabilmesine ve Türkiye'de, özellikle İstanbul'da, mikroplastik kirlilik sorunun doğru ve kapsamlı bir şekilde çözülmesine yardımcı olacağını, ayrıca yapılacak ileri çalışmalarda katkıda bulunacağını umulmaktadır.



## II. GENEL BİLGİLER

Plastik malzemelerin temel özelliklerinden ikisi, iki Yunanca kelimesinden türeyen ve plastik kelimesinin kendisinden türetilmiştir. Birincisi 'şekillendirilebilen' anlamına gelen plastikos (πλαστικός), ikincisi ise 'kalıplanmış' anlamına gelen plastos'tur (πλαστός). Plastik malzemelerin diğer özelliklerinden bazıları, üretim kolaylığı, düşük maliyeti, su ve kimyasal geçirmezliği ve sıcaklık ve ışık direncidir. Bu özellikler, plastiklerin ahşap, kâğıt, taş, deri, metal, cam ve seramik gibi birçok malzemenin yerini almasına neden olmuştur. Şu anda plastik maddeleri, ataçlardan uzay gemilerine kadar çok geniş ve genişleyen bir ürün yelpazesinde bulunmaktadır (Da Costa et al., 2017).

En eski plastikleri, organik polimerlerinden ve biyolojik malzemelerinden elde edilmiştir. 1800'lerde sanayi devrimi sırasında, üretim sektöründe gelişme ve ilerlemelerin gerekliliği, kalıplanabilir malzemelerin üretimine yönelik araştırmalarını teşvik etmiştir. Muhtemelen ilk insan yapımı plastik, 1856'da Birleşik Krallık'ta, Birmingham'da Alexander Parkes tarafından patenti alınan Parkesine idi. Bununla birlikte, ilk tam sentetik plastik olan bakalit, 1900'lerin başında üretilmişti. Bu ilk termoplastikler kararsızdı ve birçok uygulama için uygun değildi. Birinci dünya savaşından sonra, malzeme kıtlığı, gelişmiş teknolojilere duyulan ihtiyacı ve kimya mühendisliğindeki gelişmeleri, üretilen plastik çeşitliliğinde bir genişlemeye yol açmıştı. Toplu üretim tamamen ikinci dünya savaşından sonra başlamış olup, 1960 ve 1970'lerde yaşanan tüketiciliğin başlangıcı, geleneksel malzemelerinden plastiğe doğru bir kopuşu teşvik etmiştir (Barnes et al., 2009; Lusher et al., 2017a).

Plastik, fosil kaynaklarından (kömür, doğal gaz, ham petrolü) ve selüloz, tuz ve yenilenebilir bileşikleri (tahıl, mısır, patates, palmiye, şeker pancarı ve kamışı, nişasta, deniz yosunu ve bitkisel yağları) dahil olmak üzere organik ürünlerinden elde edilen geniş bir sentetik ve yarı sentetik polimer ailesidir. Konvansiyonel fosil yakıtlarından uzaklaşmak amacıyla, teknolojik gelişmeleri, yenilenebilir kaynakları kullanarak hidrokarbon bazlı plastiklerin geliştirilmesine yol açmıştır. Biyoplastiklerin geliştirilmesinde de ilerlemeler olmuştur. Her iki kaynak da (fosil yakıt ve biyokütle),

biyolojik olarak parçalanamayan veya parçalanabilen plastikleri üretmek için kullanılabilir. Biyoplastikler, plastik üretiminde yeni bir gelişmedir. Biyoplastikler, biyolojik olarak parçalanabilen, okso biyolojik olarak parçalanabilen ve biyo-bazlı plastikleri içermektedir. Biyolojik olarak parçalanabilen plastikleri, belirli koşullar altında (örn. sıcaklık) mikroorganizmalar tarafından su ve karbondioksit (veya metan) parçalanabilen plastiklerdir. Okso-biyolojik olarak parçalanabilen plastikleri ise, uygun koşulları altında bozulma sürecini katalize eden küçük miktarlarda metal tuzları içeren geleneksel poliolefin plastiklerdir. Biyo-bazlı plastikleri biyolojik ve yenilenebilir kaynaklarından yapılır ve daha zayıf polimer yapıları nedeniyle biyolojik bozulmaya daha duyarlı olabilmektedir. Bu özel plastikler, sıradan plastiklere göre daha kolay çözünmektedir. Bir plastik maddenin tamamen bozulması, tamamen parçalanıp su, karbon dioksit, metan ve diğer sentetik olmayan moleküllerine ayrışması anlamına gelmektedir. Plastik parçaların büyük çoğunluğu için, hava koşullarının etkisi altında giderek daha küçük plastik döküntülere ayrılarak parçalansalar bile, polimerin kendisi deniz koşullarında doğal kimyasal bileşiklerine veya kimyasal elementlerine tam olarak bozulmayabilmektedir (Lusher et al., 2017a). Çizelge 1’de, deniz ortamında bulunan plastiklerin yoğunlukları ve yaygın uygulamaları gösterilmiştir (GESAMP, 2015).

Çizelge 1 Deniz ortamında bulunan plastiklerin yoğunlukları ve yaygın uygulamaları (GESAMP, 2015)

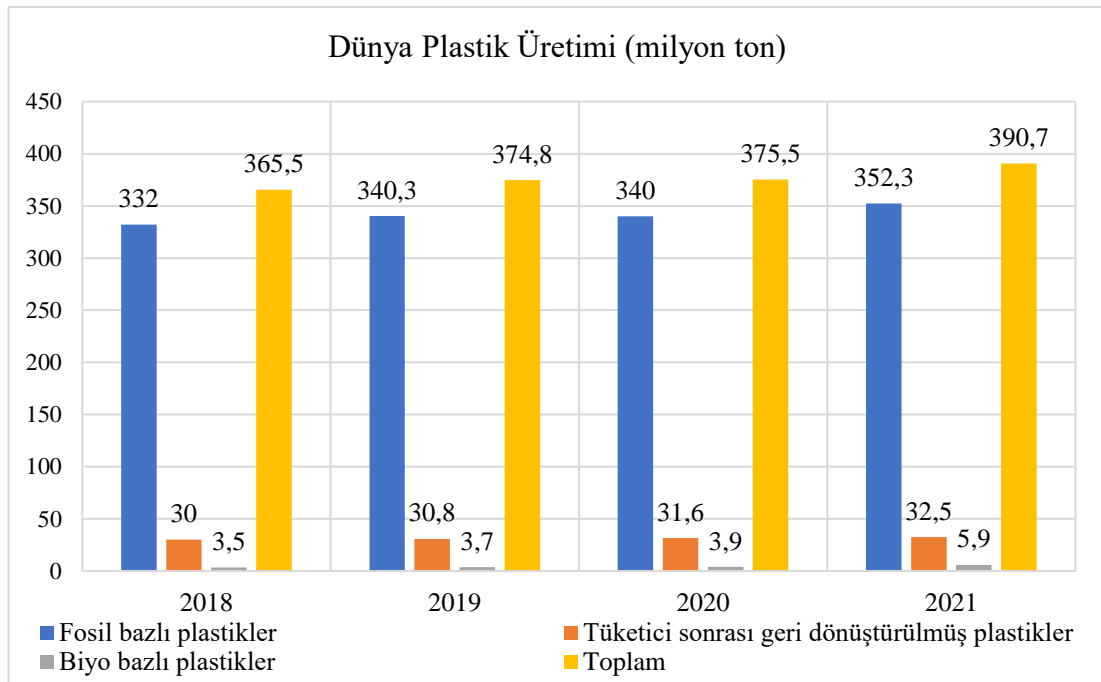
Polimer Türü	Yaygın Uygulamaları	Yoğunluk g/cm <sup>3</sup>
Polietilen (PE)	Plastik torbaları, depolama kapları	0,91-0,95
Polipropilen (PP)	İp, şişe kapakları, dişli, çemberleme	0,90-0,92
Polistiren (PS) (genişletirilmiş)	Soğutma kutuları, şamandıralar, bardaklar	0,01-1,05
Polistiren (PS)	Kaplar, kutular	1,04-1,09
Polivinil klorür (PVC)	Film, boru, kaplar	1,16-1,30
Poliamit (PA) veya Naylon	Balık ağları, ip	1,13-1,15
Polietilen tereftalat (PET)	Şişeler, çemberleme	1,34-1,39
Poliester reçinesi + cam elyafı	Tekstil, tekneler	>1,35
Selüloz asetat	Sigara filtreleri	1,22-1,24

## A. Dünyada Plastik Kirliliği

### 1. Plastik Üretimi

2015 yılında dünya çapında plastik üretiminin 322 milyon tona ulaştığını tahmin edilmektedir (PlasticEurope, 2016). 2019'da dünya plastik üretiminin 374,8 milyon ton olduğunu tahmin edilmiş ve bu rakam önceki yıl tahminlerinden 9,3 milyon ton daha yüksektir. 2020 yılında, kovid pandemisi nedeniyle, küresel plastik üretimindeki artış trendi durmuştur. Dolayısıyla, 2020'de dünya plastik üretiminin 375,5 milyon tona ulaşacağını ve 2019 yılın üretiminden yalnızca 0,7 milyon ton daha yüksek olacağını tahmin edilmiştir (PlasticsEurope, 2022).

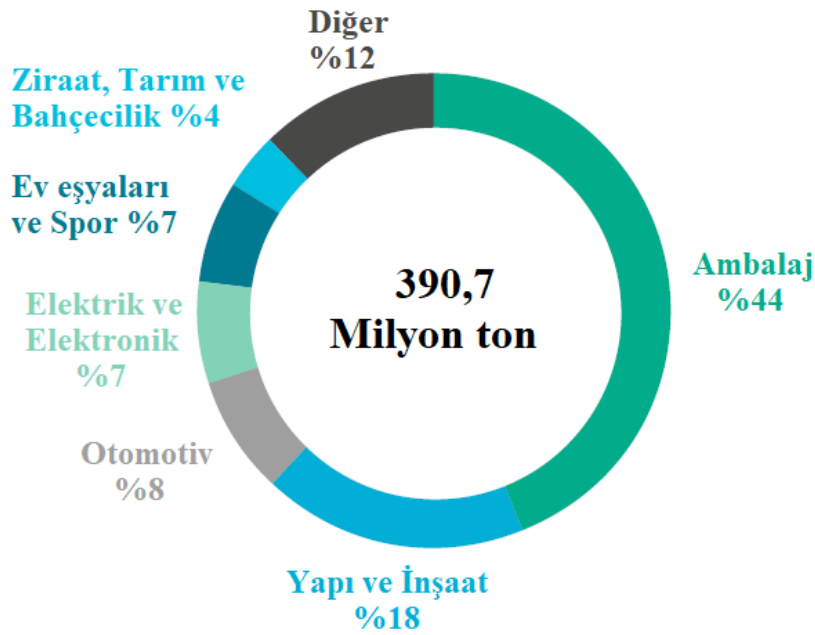
Ancak 2020'deki durgunluğun ardından, küresel plastik üretimi yükselişe geri dönerek 2021'de 390,7 milyon tona ulaşmıştır (PlasticsEurope, 2022). Şekil 1'de, 2018 ve 2021 yılları arasında dünya plastik üretiminin evrimi gösterilmektedir (PlasticsEurope, 2022).



Şekil 1 Dünya plastik üretiminin evrimi (PlasticsEurope, 2022)

2021'de dünya plastik üretiminin %90,2'si fosil bazlıydı. Tüketici sonrası geri dönüştürülmüş plastikleri ve biyo-bazlı/biyo-bağlı plastikleri, dünya plastik üretiminin sırasıyla %8,3 ve %1,5'ini oluşturuyordu. Çin, Dünya plastik üretiminin neredeyse üçte birine ulaşmış (%32), onu Kuzey Amerika (%18) ve Avrupa (%15) izlemiştir. Ambalaj (%44) ve yapı ve inşaat uygulamaları (%18) dünyanın en büyük iki plastik

pazarıdır (PlasticsEurope, 2022). Şekil 2'de 2021'de küresel plastik üretiminin dağılımı görünmektedir (PlasticsEurope, 2022).



Şekil 2 2021'de küresel plastik üretiminin dağılımı (PlasticsEurope, 2022)

Dünyada artan plastik üretimi ve kullanımı, verimli bir atık yönetimini gerektirmektedir. Birçok ülke sofistike atık yönetimi planları geliştirmiş, ancak atık sorunu gelişmekte olan ülkelerde akuttur. Günümüzde, mevcut verilere sahip ülkelerin %58'inde (105 ülkeden 61'inde), plastikler kütlece katı atıkların en az %10 oluşturmaktadır (Hoornweg and Bhada-Tata, 2012). Plastikler çöplüklere gömülebilir, geri dönüştürülebilir, yakılabilir, kazayla kaybolabilir veya kasıtlı olarak çöpe atılabilmektedir. Atıkların yakılan bileşeni dışında, toplu plastik üretiminin başlangıcından itibaren üretilen tüm plastiklerin, bütün veya parçalanmış halde çevrede kaldığı tahmin edilmektedir. Uygunsuz bir şekilde işlenen plastik atıkları, atık akışlarından kaçarak çevreye girebilir ve sonunda denize ulaşabilmektedir. Geri dönüştürülmüş plastik oranı 1990'dan beri her yıl artmış, ancak kâğıt (%58) ve demir ve çelik (%70-90 arasında) gibi diğer malzemelerin çok gerisindedir. Büyük plastik parçaların atık akışını yönetmek için çeşitli yönetim seçenekleri uygulanmıştır. Açık çöplükler veya çöplüklere boşaltma, yakma, atıktan enerjiye dönüştürme ve geri dönüşüm, katı atık için mevcut yönetim planları arasında yer almaktadır. Ancak, tüm plastik maddeleri geri dönüştürülmemiş veya geri dönüştürülemez, bu da yetersiz atık



akışının bir sonucu olabilmektedir. Avrupa'da 2014'te 25,8 milyon ton tüketici sonrası atıkları resmi atık akışlarında bırakılmıştır (%69,2'si geri dönüşüm ve enerji geri kazanım süreciyle geri kazanılmış (sırasıyla %29,7 ve %39,5) ve %30,8'i çöplükte sona ermiştir). Plastik ambalaj malzemeleriyle ilgili olarak (2013'te 78 milyon ton), %14 geri dönüştürülmüş, %14 yakılmış, %40 çöpe atılmış ve %32 küresel olarak çevreye ulaşmıştır. Geri dönüşüm, mevcut atık akışları arasında yaygın tercih edilen arıtma seçeneği olarak kabul edilmektedir. Bu yöntem, ömrünü tamamlamış eşyaların atık olmaktansa bir değere sahip olmasını sağlamaktadır. Atıkların arıtılması ülkeden ülkeye farklılık gösterir, bazı ülkelerde büyük ölçüde düzenli depolamaya dayanırken, diğerlerinde geri dönüşüm ve enerji üretimine (ısı, buhar ve elektrik şeklinde) odaklanmaktadır. Ancak atıkların arıtılması, gelişmekte olan ülkelerde yaygın olmayan karmaşık ve pahalı ayırma altyapısı gerektirmektedir. Tahminlere göre, 192 ülkeden 5'i yanlış yönetilen plastik atıkların %50'sinden fazlasına katkıda bulunmaktadır. Bunlar esas olarak hızlı ekonomik büyüme yaşayan, ancak henüz verimli atık yönetimi altyapılarına sahip olmayan gelişmekte olan ülkelerdir. Yanlış yönetilen plastik atıkları yetersiz şekilde atılıyor ve sonunda okyanusa iç su yolları, atık su çıkışları ve rüzgâr veya gelgit yoluyla taşınabilmektedir. Mevcut tahminler, 2010 yılında okyanusa 4,8-12,7 milyon ton arasında plastiğin girdiğini göstermektedir (Lusher et al., 2017a).

## **2. Mikroplastik Kimyasal ve Mikrobik Kontaminasyonu**

Mikroplastikler, üretim sırasında eklenen kimyasalların bir karışımını içerebilir ve ayrıca çevredeki kirleticileri emebilir (adsorbe veya absorbe edebilir) (Rochman, 2015). Monomerler, oligomerler, plastikleştiriciler ve alev geciktiriciler eklenen kimyasallar arasında bulunmaktadır. Çevreden emilen kirleticileri, PCB, PAH, klorlu pestisitler, (kalıcı organik kirleticileri (POP) grubuna dahil edilen), iz metaller ve bakteriler içermektedir. Diklorodifeniltrikloroetan (DDT), PAH ve PCB, deniz suyunda bulunan çevresel kimyasallarından yaygın olarak kullanılan bileşikleri arasında bulunmaktadır. Kalıcı biyoakümülatif toksinler (PBT), dağılma, endüstriyel salınımları veya plastik gibi nesnelere salınma gibi çeşitli yollarla sucül ortamlarına girebilmektedirler. Çevresel bozulmaya karşı dirençli oldukları için, PBT'ler çevrede uzun ömürlü olan ve birkaç yıl sürebilen hidrofobik kimyasallardır. Bu maddelerin hidrofobik özelliği, mikroplastiklere ve organik parçacıklara bölünmeyi yönlendirmektedir. Plastikler ayrıca hidrofobik özelliklere sahip olduklarından,

mikroplastikler bu kirleticiler için bir çekme görevi görmektedirler (Gouin et al., 2011; Rochman, 2015). Sorpsiyon, mikroplastiklerin geniş yüzey alanı/hacim oranıyla artırılır. Bu oran aynı zamanda parçacıkların devam eden parçalanmasıyla da artmaktadır. Küresel bir parçacık için bu oran, çapıyla ters orantılıdır. Kimyasalların salımı veya desorpsiyonu, sorpsiyonu gibi de geniş bir yüzey alanı/hacim oranı ile potansiyel olarak artırılır ve her ikisi de partiküller ve çevreleyen su veya organizmalar arasındaki konsantrasyon gradyanlarına, sıcaklığa ve pH'a bağlıdır (Teuten et al., 2009; GESAMP, 2016, Engler, 2012; Rochman, 2015; Jang et al., 2016). Mikroplastiklerle ilişkili bu kimyasalların sorpsiyonu, birikimi, desorpsiyonu, salımı ve taşınmasını anlamak zorlu bir süreçtir, çünkü deniz ortamındaki çeşitli organik parçacıkları da (plankton, organizmalar ve mikroorganizmalar, tortular vs.) kimyasallarla etkileşime girebilmektedir. Kimyasalların mikroplastikler ve organik parçacıkları arasında bölünmesi, sürekli değişen ve birçok değişkene bağlı dinamik bir süreçtir (Hartmann et al., 2017; Lusher et al., 2017a). Plastik, kirleticileri  $10^6$  kata kadar konsantre edebilir, böylece bu kimyasallar için potansiyel bir kaynak ve vektör rolü oynayabilmektedir. Okyanuslarda ve yakın kıyı bölgelerinde, sırasıyla 1-200 nanogram (ng)/g PCB, 4-10000 ng/g PAH ve 0,1-250 ng/g organoklorlu pestisitlerin konsantrasyonları bulunmuştur (Bouwmeester et al., 2015). Plajlarda biriken mikroplastiklerde, PCB için tespit edilen en yüksek konsantrasyonları 2750 ng/g'a kadar ve PAH için 24000 ng/g'a kadar çıkmıştır (EFSA, 2016).

Su ortamında, metaller gibi inorganik kirleticileri de mikroplastiklere adsorbe edilebilmektedir (EFSA, 2016). Bazı ağır metalleri, üretim sırasında stabilizatör, antioksidan ve boya olarak kullanmak için plastiklere dahil edilmektedir. Metaller ayrıca, limanlarda ve marinalarda ağır metal kontaminasyonu kaynağı olan çürüme önleyici boyalarına dahil edilmektedir (Almeida et al., 2007; Lusher et al., 2017a). Önemli metal konsantrasyonlarını adsorbe etme potansiyeline sahip olduklarından ve su hareketleriyle dağıtımına izin vererek uzun süre boyunca askıda kalabildiklerinden dolayı, mikroplastikler deniz ve tatlı su ortamlarında metal taşınması için bir araç olabilmektedirler (EFSA, 2016).

Plastik kalıntılarının çeşitli mikrobiyal toplulukları için bir substrat görevi görebileceği belgelenmiştir. Plastiği bozulan organizmaları ve patojenleri dahil olmak üzere, mikroorganizmaların mikroplastikleri kolonize ettiği gösterilmiştir. Ayrıca, okyanusta bu tür toplulukların, yüzey suyundaki mikrobiyal topluluklarından farklı

olduğu kanıtlanmıştır (EFSA, 2016). Mikroplastik enkazı, yüzeyine bağlanan mikroorganizmaların taşınmasını kolaylaştırabilir ve uzun mesafelerde göçmesine neden olabilmektedir. Mikroplastiklerin *Vibrio* bakterilerin, özellikle patojenik suşları (*V. coralliilyticus*, *V. harveyi*, *V. splendidus*, *V. parahaemolyticus*, *V. alginolyticus* ve *V. fluvialis*); ve toksik dinoflagellatlar gibi (*Ostreopsis spp.*, *Coolia spp.*, *Alexandrium spp.*) zararlı mikroorganizmaların taşıdığını görülmüştür. Virüslerin diğer mikropları gibi ortamdaki parçacıklara karmaşık etkileşimleri yoluyla bağlandığı iyi bilinmesine rağmen (bu da onların kaderi ve taşınmalarının parçacıklarınkiyle ilişkili olduğu anlamına gelir), bugüne kadar plastik döküntüleri üzerinde potansiyel virüs varlığına dair hiçbir veri mevcut değildir (Lusher et al., 2017a).

## **B. Mikroplastik Kontaminasyonunun Sağlık Üzerindeki Etkisi**

### **1. Mikroplastik Kirliliği ve Gıda Güvenliği**

Antropojenik enkazı, deniz ortamında küresel olarak yaygınlaşmakta ve mikroplastikler, insanlar tarafından tüketilen çeşitli deniz canlılarda bulunmaktadır. Bu nedenle, mikroplastikler gibi antropojenik kalıntıların deniz hayvanları tarafından yutulmasının balık stokunu ve/veya insan sağlığını etkileyip etkilemeyeceği konusunda endişeler vardır. Deniz ürünlerin tüketimi yoluyla mikroplastiklerin deniz ürünleri ağlarına ve insan düzeyine sızdığı bilimsel çalışmalardan açıkça anlaşılmaktadır (Rochman et al., 2015; Li et al., 2015; Van Cauwenberghe and Janssen, 2014). Antropojenik enkazın biyolojik organizasyonun çeşitli seviyelerinde deniz hayvanlarına neden olduğu fiziksel zarar, yerel gıda mevcudiyetini potansiyel olarak tehdit edebilmektedir. Bu durum, özellikle enkazın bol olduğu ve deniz ürünlerinin yerel nüfus için önemli bir protein kaynağı olduğu yerlerinde yaygındır (Örneğin. Endonezya ada toplulukları). Ayrıca, antropojenik enkazı, tehlikeli kimyasallarından oluşan bir karışımla ilişkilidir. Dolayısıyla, plastikten elde edilen kimyasalların balık ve kabuklu deniz ürünleri içeren diyetleri yoluyla insanlara geçebilir ve bu da insan sağlığı üzerindeki sonuçlarıyla ilgili önemli soruları gündeme getirmektedir (GESAMP, 2016).

Yumuşakçaların, kabukluların ve balıkların akuakültüründe meydana gelebilen hastalıkları önemli bir kayıp kaynağıdır. Mikroplastikler, bu tür hastalıklara yol açabilecek patojenleri barındırarak, balıkçılığı olumsuz yönde etkileyebilmektedir (Zettler et al., 2013; Lafferty et al., 2015). Snoussi ve arkadaşları, *Vibrio*'nun

potansiyel patojenik suşlarının plastik yüzeylerine yapıştığını ve bu yüzeylerde kalıcı olduğunu göstermişlerdir. *Vibrio* cinsindeki bakteriler, Kuzey Atlantik Subtropikal Döngüsünde sürüklenen mikroplastikleri üzerinde bulunmuştur (Snoussi et al., 2009; Zettler et al. 2013). *Vibrio*'nun belirli türleri (örn. *Vibrio parahaemolyticus*) insanlarda, kabuklu deniz hayvanlarında ve balıklarda hastalığa neden olabilmektedir. Bu hastalık nedeniyle kabuklu deniz hayvanlarının avcılığının kapanması, endüstri için yıkıcı etkiye sahip olabilir ve kapatmaların uzun sürmesi büyük negatif ekonomik etkilere yol açabilmektedir (GESAMP, 2016).

Yiyecek hazırlama ve pişirme sırasında, deniz ürünlerindeki mikroplastiklerin ısıya maruz kalması, kimyasal bileşenlerinin ve enkazdan emilen kirleticilerinin sızmasını neden olabilecektir. Bu nedenle, gıda kullanımı ve hazırlanması deniz ürünlerindeki mikroplastiklerin toksisitesini nasıl etkileyebileceğini değerlendirilmelidir. Plastiğin ısıtması, mevcut kimyasalların kinetiğini etkileyebilir ve/veya farklı biçimlere dönüşmelerine neden olabilmektedir. Örneğin, plastikler bisfenol A, stirenleri ve ftalatları süzebilir ve bu maddelerin insan sağlığı üzerinde etkileri olabilmektedir (Halden, 2010).

## **2. Deniz Ürünlerinin Küresel Tüketimi**

Japonya ve Amerika Birleşik Devletler (ABD) deniz ürünlerinde en yüksek ithalat değerine sahip ülkelerdir (bireysel ülkeler için) ve bunları değerinin yarısı ile Çin izlemektedir. Avrupa Birliği, 2012 yılında 47 milyar dolarlık değeriyle, toplam dünya ithalatının %36'sını temsil eden, dünyanın en büyük balıkçılık ve su ürünleri ticareti sahibidir. Balığın hayvansal protein tüketimine katkısı açısından, Grönland, Japonya, Filipinler ve Portekiz, günde kişi başına >10 g tüketen en önemli tüketicileri arasında yer almakta ve balığın hayvansal protein tüketimine katkısının %20'sinden fazlasını temsil etmektedirler. Küresel düzeyde ise, balık tüketimi yılda kişi başına 20 kg civarındadır. Bu, günde kişi başına ortalama 10 g balık proteini alımına eşdeğerdir. Bu sayı, yüksek balık tüketicileri için çok daha yüksektir. Nispeten yüksek kişi başına tüketim oranı, büyük nüfuslarla birleşince, Asya en önemli balık tüketen bölgeyi yapıyor ve onu Avrupa izlemektedir. Gelişmekte olan ülkelerde kişi başına ortalama balık tüketimi genellikle daha düşük olmasına rağmen, balık kıyı bölgelerinde temel gıda olabilir ve yoksullar için önemli bir protein kaynağıdır (FAO, 2014).

### 3. İnsan Sağlığı Üzerindeki Etkileri

Çift kabukluları, balık ve deniz tuzu gibi deniz ürünlerinin tüketimi, insanları mikro ve nanoplastiklere maruz bırakabileceği kanıtlanmıştır. Deniz ürünlerine ek olarak, içme suyu, banyo suyu, havadan soluma ve kozmetiklerle teması gibi, insanlar diğer yollarla da mikroplastiklere maruz kalabilmektedir (Napper et al., 2015). Bal, içme suyu, bira, şeker ve sofr tuzu gibi çeşitli gıda maddelerinde mikroplastik tespit edilmiştir (Liebezeit and Liebezeit 2013, 2015; Yang et al., 2015). Gıda güvenliği ile ilgili olarak, mikroplastiklerin insan sağlığı üzerindeki olası etkileri, kontamine deniz gıda maddeleri yoluyla diyet maruziyetine bağlı olacaktır. Genel olarak, plastik parçacıkların üç olası etkisi var: 1) çok küçük (nano boyutunda ve daha düşük mikro boyut aralığında) plastik parçacıkların dış dokuları ve hücrelerle etkileşimi nedeniyle veya doku ve hücrelere translokasyonundan sonra neden olduğu parçacık toksisitesi; 2) üretim sırasında mikroplastiklere eklenen katkı maddelerinin sızması veya doğada plastikler üzerinde biriken kirleticilerin salınması nedeniyle kimyasal toksisitesi ve 3) mikroplastiklerin mikrobiyal kontaminasyonundan kaynaklanan hastalık riskleri. Partikülleri dokulara alındıktan sonra, partikül ve kimyasal toksisite yoluyla kümülatif etkileri meydana gelebilmektedir (GESAMP, 2016).

### 4. Mikroplastik Alınımı, Translokasyonu, Emilimi ve Dağıtımı

Kirlenmiş gıdaların yenmesi üzerine mikroplastikler gastrointestinal sistemine girmektedir. Bağırsak duvarının epiteli mikroplastiklere karşı önemli bir bariyer temsil etmektedir (doğrudan transselüler taşıma hariç). Bağlayıcı sıkı bağlantı kanallarının maksimum fonksiyonel gözenek boyutunun yaklaşık 1,5 nm olduğunu göz önüne alındığında, hücreler arası alım yolu da mümkün değildir. Ancak, özellikle Peyer plakalarının (Alt ince bağırsakta bulunan ve bağırsakla ilişkili lenfoid dokunun önemli bir bölümünü temsil eden lenfoid foliküller) mikrofoid (M) hücreleri aracılığıyla lenfatik doku yoluyla alımı mümkün olabilmektedir (Galloway, 2015). Bundan sonra, fagositoz veya endositoz (hücrelerin sıvıları (pinositoz) veya katıları (fagositoz) içine aldığı ve dahil ettiği süreç) meydana gelebilmektedir. Mikroplastikler için özel veriler sınırlıdır. Partikül boyutu, alımın kapsamını ve yolunu belirlemede en önemli faktörlerinden biridir. Endositoz için üst partikül boyut sınırı yaklaşık 0,5 µm'dir. Fagositozun 0,5 µm'den büyük partiküllerle makrofajlar tarafından meydana geldiğine inanılmaktadır (Yoo et al., 2011). Makrofajın hacmi, fagositoz için üst boyut sınırı

belirlemektedir. Farelerde intraperitoneal enjeksiyonundan sonra peritoneal makrofajlarında 1 µm, 5 µm ve 12 µm polimetilakrilat (PMMA) ve polistiren (PS) partiküllerinin fagositozu gösterilmiştir (Tomazic-Jezic et al., 2001). M-hücreleri açısından zengin Peyer plakaları, mikroplastiklerin baskın emilim bölgeleri olarak sayılabilmektedir (Galloway, 2015; Wright and Kelly, 2017; Lusher et al., 2017a).

Bağırsak boyunca çeşitli tip ve boyutlarda (0,1-150 µm arasında) mikroplastiklerin lenfatik sistemine translokasyonu, insanlarda (parçacık boyutu: 0,2-150 µm), köpeklerde (3-100 µm), tavşanlarda (0,1-10 µm) ve kemirgenlerde (30-40 µm) gösterilmiştir (Hussain et al., 2001). Köpeklerin portal damarında polivinil klorür (PVC) partikülleri (5-110 µm) tespit edilmiştir (Volkheimer, 1975; Lusher et al., 2017a). Mikroplastiklerin insanlarda ve diğer memelilerde ve memeli sistemlerinde bağırsaktan dolaşım sistemine ve çeşitli doku ve hücrelere translokasyonu hakkında farklı çalışmalar çizelge 2'de gösterilmiştir (GESAMP, 2015).

Çizelge 2 İnsanlarda ve diğer memelilerde mikroplastik translokasyonu gösteren çalışmalar (GESAMP, 2015)

Tür	Maruz Bırakma ve Etki	Kaynak
İnsan lenf ve dolaşım sistemi	Mide bağırsak yolundan lenf ve dolaşım sistemine alınan PE partiküllerinin emilmesi	Hussain et al., 2001
İnsan plasentası (ex vivo)	Floresan 50, 80, 240 ve 500 nm PS partikülleri. 240 nm'ye kadar olan partiküller plasenta tarafından alınmıştır	Wick et al., 2011
Fare	535, 202 ve 64 nm PS. Akciğer iltihabı ve enzim aktiviteleri, partikül boyutu azaldıkça artan şiddetle etkilenmiştir	Brown et al., 2001
İnsan hava yolunun düz kas hücresi	Floresan 40 nm PS partikülleri, hücre kontraktilesini azaltmıştır	Berntsen et al., 2010
İnsan endotel hücreleri (kan damarları)	20-500 nm boyutunda karboksil PS lateks boncukları test edilmiştir. 20 nm PS partikülleri, apoptoz ve nekroz yoluyla hücre hasara neden olmuştur	Fröhlich et al., 2009
İnsan makrofajları	Floresan PS mikroküreleri (1, 0,2 ve 0,078 µm). Her boyutta partikül alımı: ortalama olarak makrofajların %77 ± 15'i (ortalama ± SD) 0,078 µm, %21 ± 11'i 0,2 µm partikülleri ve %56 ± %30'u 1 µm partikülleri içeriyordu. Endositik olmayan süreçler tarafından yönlendirilen partikül alımı (difüzyon veya yapışkan etkileşimler).	Geiser et al., 2005
Köpek	PVC partikülleri (5-110 µm) portal damarında belirlenmiş ve karaciğere ulaşacaktır	Volkheimer, 1975

Mikroplastiklerin bağırsak emiliminin az olduğunu gösterilmiştir. Çeşitli kemirgenlerde, 2 µm çapındaki lateks parçacıklarının emilimi, uygulanan dozun sadece %0,04-0,3 arasındaydı (Carr et al., 2012). Polilaktid-ko-glikolid mikropartiküllerinin (3 µm) benzer sınırlı absorpsiyonu (yaklaşık %0,2), in vitro bir Ussing odasına (epitelyal membran özelliklerini ölçmek için kullanılan bir cihaz) monte edilmiş insan mukozal kolon dokusu kullanarak ölçülmüştür. İnflamatuar bağırsak hastalığı olan hastalarının mukozal kolon dokusu, bağırsak geçirgenliğinin artması nedeniyle, bu partiküllerin daha fazla taşındığını gösterilmiştir (Sağlıklı kontrollerde %0,2'ye kıyasla %0,45) (Schmidt et al., 2013; Lusher et al., 2017a).

Absorpsiyondan sonra mikroplastiklerin dağılımı hakkında pek bir şey bilinmemekle birlikte, lenfte görünen >0,2 µm'lik mikropartiküllerin dalak filtrasyon sistemi yoluyla bağırsağa atılacağı, kandaki mikropartiküllerin ise karaciğerde safra yoluyla uzaklaştırılacağı ve nihayet dışkı yoluyla atılacağı bilinmektedir. Farelerde, 5 µm ve 20 µm floresan polistiren mikroplastik partiküllerin günlük oral beslenmesi, karaciğer ve böbrekte her iki tip partikülün birikmesine neden olmuştur (Deng et al., 2017). Bu deneylerde partiküllerin çok yüksek dozları kullanılmış:  $2 \times 10^4$  ve  $150 \times 10^4$  arasında hayvan başına günlük partikül. Fareler için bu sonuçlar, >1,5 µm boyutundaki parçacıkların organların kılcal damarlarına girmesini beklenmediği sonucuna varan daha önceki çalışmalara meydan okumaktadır (Yoo et al., 2011). Boyut, bileşim, yüzey yükü ve hidrofilitate gibi absorpsiyonu etkileyen birçok faktör göz önüne alındığında, partiküllerin alımını tahmin etmek zordur (Lusher et al., 2017a).

Mikroplastiklerin absorpsiyonuna ilişkin in vivo insan verileri çok az veya mevcut değildir. Memelilerde yapılan çalışmalarda, lenfte 150 µm'ye kadar boyutlara sahip mikropartikülleri tespit edilirken, bir çalışmada portal damarda PVC partikülleri (110 µm) tespit edilmiştir. 150 µm'den büyük mikroplastiklerin absorbe edilmemesi çok olasıdır. Bu boyuttaki parçacıklarından sadece bağırsakta lokal etkiler beklenebilir (bağışıklık ve inflamatuvar etkileri). Daha küçük mikroplastikler (<150 µm) sistemsel maruziyetine neden olabilir, ancak mevcut verileri absorpsiyonun sınırlı olduğunu göstermektedir ( $\leq$ %0,3). Sadece en küçük fraksiyonu (boyut  $\leq$  20 µm) organlara girebilmektedir (Lusher et al., 2017a). Çizelge 3'te, partikül boyutuna dayalı olarak memelilerde mikro ve nanoplastiklerin akıbetini görmektedir (Lusher et al., 2017a).

Çizelge 3 Partikül boyutuna dayalı olarak memelilerde mikro ve nanoplastiklerin akıbeti (Lusher et al., 2017a)

Partikül boyutu	Akıbeti
Mikroplastikler	
>150 µm	Emilim yok
<150 µm	Lenf içinde; emilim ≤ %0,3
= 110 µm	Portal damarında
≤ 20 µm (≤20000 nm)	Organlara erişim
Nanoplastikler	
≤ 100 nm	Tüm organlara erişim, kan-beyin ve plasenta bariyerinin translokasyonu; %7'ye kadar emilim



### III. MİKROPLASTİK ANALİZ YÖNTEMLERİ

#### A. Mikroplastik İzolasyonu

Farklı organizmalar tarafından yutulan mikroplastikleri tespit etmek için çeşitli teknikler geliştirilmiştir. Bu teknikler söz konusu organizmadan bağımsız olarak, mikroplastikleri biyotik malzemeden çıkarma yöntemleri, diseksiyonu, depurasyonu, homojenizasyonu ve dokuların kimyasallar veya enzimlerle sindirimini içermektedir (Lusher et al., 2017b). Mikroplastikleri izole etmek için organik maddeyi sindirilebilir ve geriye sadece dirençli malzemeleri kalır. Asitler (örn. nitrik asit, formik asit, hidroklorik asit), alkaliler (örn. potasyum hidroksit), oksitleyici maddeler (örn. hidrojen peroksit) ve enzimler (Proteinaz K) gibi maddeleri kullanan farklı sindirim protokolü geliştirilmiştir. Bugüne kadar Potasyum hidroksit (KOH) kullanımı en uygun strateji gibi görünmektedir (Dehaut et al., 2016; Kühn et al., 2017; Lusher et al., 2017b; Hermsen et al., 2018). Sindirilmemiş dokuyu, inorganik kalıntıyı ve mikroplastikleri gibi herhangi bir inatçı maddeyi tutmak için, sindirim işlemi ardından elde edilen solüsyonu filtrelenebilmektedir. Filtredeki mikroplastikleri doğrudan görüntülenebilir, slaytlara aktarılabilir veya izole edilebilmektedir (Lusher et al., 2017a).

Biyotik çalışmalarda plastik parçacıkları organik malzemeden ayırmak için, yoğunluk ayrımı işlemi uygulanabilmektedir. Yoğunluk ayrımı Deniz Strateji Çerçeve Yönergesi (MSFD) tarafından tavsiye edilmiştir. Sodyum klorür (NaCl) gibi doymuş tuz çözeltileri, çözülmemiş inorganik maddenin bulunduğu daha az yoğun parçacıkların ayrılmasını sağlamaktadır (örn. kum, kemik). Ucuz ve tehlikesiz olduğu için NaCl önerilir; ancak, NaCl kullanımı, daha yoğun parçacıkların ( $>1,2 \text{ g cm}^{-3}$ ) yetersiz değerlendirilmesine yol açabilmektedir. Sodyum iyodür (NaI) ve çinko klorür ( $\text{ZnCl}_2$ ) çözeltileri, NaCl'e uygun alternatifler olarak kabul edilmiştir (Horton et al., 2017). Bu maddelerin çözeltilerinin yüksek yoğunluğu, polivinil klorür (PVC) dahil olmak üzere yüksek yoğunluklu plastiklerin yüzmesini sağlamaktadır (Lusher et al., 2017a).

## B. Görsel Saptama ve Ayırma

Nispeten yüksek bir hata oranına sahip olabilmesine rağmen, görsel saptama yöntemi mikroplastiklerin boyut ve miktarını değerlendirmek için kullanılan en yaygın yöntemidir. Plastiklerin daha iyi tanımlanması için, hücresel veya organik yapıların varlığı, parçaların veya liflerin sabit kalınlığı, homojen renkler ve plastik parlaklığı gibi belirli kriterler uygulanabilmektedir. Ancak, bu tür yaklaşımların güvenilirliği değerlendirilmemiştir. Işık veya elektron mikroskopisi ile görsel incelemeye dayalı diğer analizler daha yüksek çözünürlüğü sağlayabilir ancak polimer türünü belirlemek için kullanılamaz (GESAMP, 2016).

Görsel saptama hızlı, ucuz ve ek teknik personeli veya sarf malzemelerine ihtiyaç duymadan yapılabilmektedir. Yine de özellikle daha küçük boyut aralıklarında mikroplastikleri doğru bir şekilde ayırt etme yeteneği, eğitim ve deneyim gerektirmektedir. Mikroplastikleri görsel olarak tanımlama kriterleri, hücresel veya organik yapıların yokluğu, partiküller arasında homojen kalınlığı ve homojen renk ve parlaklığı içermektedir. Plastiklerin mikroskop altında manuel olarak ayrılması, 500 mikrometreden büyük partikülleri için en etkilidir. Parçacık boyutu küçüldükçe ayrılma için gereken çabası ve hassasiyeti artmaktadır. Mikroplastiklerin organik ve inorganik maddelerinden ayrılması ve işlenmesinde meydana gelen zorlukları nedeniyle, hata oranları %70'e kadar çıkabilir ve bu oranlar partikül boyutu küçüldükçe artabilmektedir. Yanlış tanımlama en çok mikrofiberlerde görülmektedir. Görsel ayırmanın doğruluğunu ölçmek için, potansiyel plastiklerin alt örnekleri kimyasal olarak analiz edilmelidir. Avrupa Komisyonu, boyutu 100 µm - 5 mm arasında olan partiküllerin bir alt örneğinin (%5–10) ve 20 - 100 µm arasındaki partiküllerin tümü daha ileri doğrulama tekniklerine tabi tutulması gerektiğini önermektedir (Lusher et al., 2017b).

Plastikler başlıca boyut, şekil ve renk gibi morfolojik özelliklerine göre sınıflandırılmaktadır. Genellikle bir parçacığın boyutu bu parçacığın en uzun boyutuna dayanılarak hesaplanır. Uygun olduğunda parçacık boyutları kategorilere de bölünebilir. Mikroplastik şekli bildirirken genellikle beş ana kategori kullanılır: fragmanlar, fibriller, boncuklar (mikro boncuklar), köpükler ve peletler; ancak kullanılan adlandırma, araştırma grupları arasında farklılık gösterebilmektedir. Renkler genellikle geniş bir spektrumda rapor edilir. Burada, renk farklılaşmasının

öznel olduğunu ve mikroplastiklerin görsel tanımlanmasının yalnızca renge dayalı olamayacağını belirtmek önemlidir. Elde edilen sonuçların etkilenmemesi için, gevrekleşmeye, parçalanmaya veya ağartmaya maruz kalan veya biyota ile kaplanmış mikroplastiklerin sınıflandırılmasında dikkat edilmelidir (Lusher et al., 2017b).

Dijital mikroskopları, birçok bilimsel çalışmada mikroplastiklerin görsel incelenmesi için kullanılmıştır. Bu cihazlar, geleneksel laboratuvar mikroskoplarına daha kolay ve ucuz bir alternatif sunabilmektedir. Yu ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, Çin'deki Bohai Denizin sahil kumunda mikroplastik varlığı araştırılmıştır. Bu çalışmada mikroplastikleri, 70x büyütmede bir AM3011 dijital mikroskobu (Dino-Lite Digital Microscope, USA) kullanarak incelenmiştir. Tüm filtreleri iyice taranıp, 0,01-10 mm'lik bir algılama aralığı elde edilmiştir (Yu et al., 2016). Nijerya'da yapılan bir çalışmada, Afrika tatlı su sistemlerinde mikroplastik oluşumu değerlendirilmiştir. Biyoendikatör olarak Gine Körfezi'nin iki kolu ve üç tatlı su böceği türü kullanılmıştır. Böcek türlerinden toplam 29 tane kimyasal olarak sindirilmiş ve ardından dijital mikroskobu ve mikro-Fourier transform kızılötesi spektroskopu ( $\mu$ -FTIR) altında mikroplastik varlığı için analiz edilmiştir (Akindele et al., 2020). Başka bir çalışmada, üç farklı atıksu arıtma tesisinde mikroplastik özellikleri, giderme verimliliği ve atıksu kalitesi ile mikroplastik konsantrasyonları arasındaki ilişkiyi araştırılmıştır. Filtre kağıtları üzerindeki mikroplastikleri, 100x büyütme ve yukarıdan yansıtılan ışık sunan bir dijital mikroskobuyla (Leica DM 750) görsel olarak incelenmiştir (Kwon et al., 2022).

### **C. Plastik Polimer Türü Tanımlanması**

Çeşitli çevresel numunelerinde mikroplastiklerin ayrıntılı analizi, kimyasal bileşiklerin ve polimerlerin tanımlanmasını gerektirmektedir. Küçük plastik parçalarının kimliğini genellikle Fourier Transform Kızılötesi spektroskopisi (FTIR) veya Raman spektroskopisi gibi ek bir adımla doğrulanmaktadır. Bu tür yöntemlerle, bir maddenin gerçekten plastik olup olmadığını teyit edilebilmektedir.

#### **1. Kızılötesi Spektroskopisi**

Kimyasal bileşikleri titreşim frekanslarına göre ayırt edilebilmektedir. Polimerler, bir karbon omurgasına bağlı olan ve periyodik olarak tekrarlanan birkaç fonksiyonel gruptan oluşmaktadır. Bununla birlikte, bu eleman bileşenlerinin olası

kombinasyonlarının yüksek sayısı, sonsuz değişkenlere yol açmaktadır. Dolayısıyla, farklı polimerler ayırt edilebilmektedir, örn. polietilen ve polipropilen. Kızılötesi spektroskopi ile mikroplastik karakterizasyonu alanında, orta kızılötesi (MIR) en yaygın analiz sistemleridir. Bu teknik, kimyasal yapıları hakkında bilgi sunmaktadır. 400 ila 4000  $\text{cm}^{-1}$  arasında yüksek karakteristik bir MIR spektrumu ile tanımlanan polimerin yanında, proteinler gibi tipik kirleticileri aynı anda tanımlanabilmektedir. Ayrıca, bu sürecin neden olduğu kimyasal yapı değişikliği nedeniyle yaşlanma kapsamını da karakterize etmesi mümkündür. Genel olarak, MIR teknikleri neredeyse hiç numune hazırlama gerektirmez. Çok çeşitli aksesuarlar ve yöntemlere göre her türlü mikroplastik analiz edilebilmektedir. Kısa ölçüm süreleri ve teorik olduğu kadar ampirik veri değerlendirme fırsatından dolayı, yüksek uygulanabilirliği diğer bir avantajdır. Ancak, Raman spektroskopisinin aksine, MIR teknikleri su için çok hassas olması, kuru numunelerinde bir sınırlamaya neden olmaktadır (Renner et al., 2017).

Geleneksel sabit Fourier Transform Orta Kızılötesi (FT-MIR) spektrometresi en yaygın olanıdır ve birçok aksesuarla birleştirilebilmektedir. Bu tür spektrometre, partikül, toz veya ince film başına 1 mm'ye kadar olan mikroplastik analizler için uygundur. Genellikle, bu cihazlar, kısa ölçüm sürelerine sahip ve karmaşık numune hazırlama gerektirmez. Daha küçük mikroplastiklerin analizi şu anda FT-MIR mikroskobu ile gerçekleştirilmektedir. Bu teknik, klasik FT-MIR spektrometrelerine kıyasla, daha uzun bir analiz süresine neden olan yüksek hassasiyetli numune işleme gerektirir (Song et al., 2015). Yine de bir mikroskop kullanması, birkaç mikrometre çapa kadar mikroplastiklerin analizine izin vermektedir. Uzamsal çözünürlük 10 x 10  $\mu\text{m}$ 'ye ulaşır ve bu, yüzey yapısında bir değişikliğe neden olan yaşlanma süreçlerinin karakterizasyonu için çok ilginç olabilir. Buna ek olarak, kimyasal bir harita oluşturmak için farklı noktalarda birden fazla ölçümü birleştirmek mümkündür (Renner et al., 2017).

Modern bir kızılötesi spektrometresi dört ana bileşenden oluşur: Kızılötesi ışık kaynağı, interferometre, numune bölmesi ve dedektör. Polikromatik kızılötesi ışığı, uyarma kaynağından yayılır. Bu ışık demeti, interferometre içindeki statik ve hareketli ayna nedeniyle kosinüs modüle edilmiş olmaktadır. Modüle edilmiş ışık demeti numuneye yönlendirilir ve titreşim işlemlerinin uyarılması nedeniyle kısmen emilir. Kalan kızılötesi radyasyonu, faz kaymasının bir fonksiyonu olarak algılanır (kızılötesi ışığın kosinüs modülasyonunun bir sonucu). Tespit edilen sinyal bir interferogram

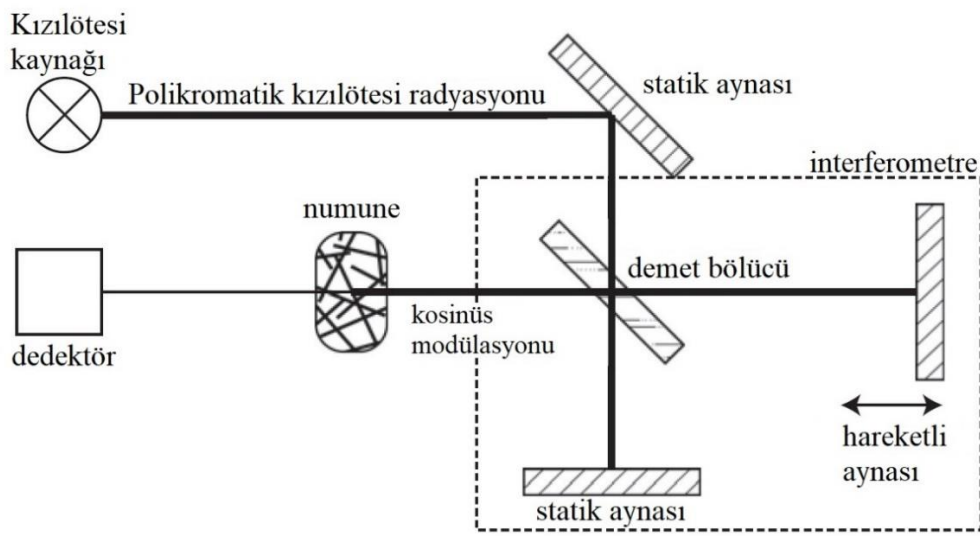
olarak kaydedilir ve Fourier dönüşümü (Fourier Transform) ile kızılötesi spektruma dönüştürülür. Bu temel adımlar çoğu MIR spektrometresinde bulunabilir ve şekil 3'te gösterilmiştir (Renner et al., 2017).

FT-MIR spektroskopisi kullanarak mikroplastiklerin analizi için, her birinin kendi avantajları ve dezavantajları olan çok sayıda aksesuar ve yaklaşım vardır. En iyi seçim, analitik konuya ve numune özelliklerine bağlıdır. Mikroplastiklerin analizi için yaygın FT-MIR teknikleri ve aksesuarları, avantajları, dezavantajları ve sınırları çizelge 4'te listelenmiştir (Renner et al., 2017).

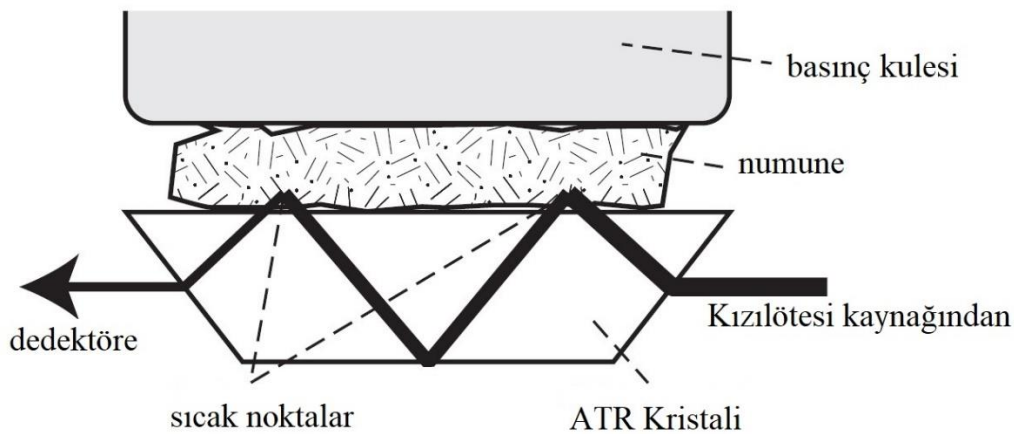
Çizelge 4 Avantajlarına, dezavantajlarına ve sınırlarına göre, mikroplastiklerin analizi için ortak FT-MIR teknikleri ve aksesuarları (Renner et al., 2017)

Teknik	Numune Boyutu ( $\mu\text{m}$ )	Penetrasyon Derinliği ( $\mu\text{m}$ )	İşleme/ Ön müamele	Uygunsuz
Polimer filmlerin geçirgenliği	>13000	<300	Çok kolay	- Mikroplastikleri - Poliamitleri
KBr (potasyum bromür) peletlerinin geçirgenliği	<1000	<300	Karmaşık	- Büyük mikroplastikleri - Birey mikroplastikleri
ATR (Azaltılmış Toplam Reflektans)	>1000	~2	Çok kolay	- Küçük mikroplastikleri - Tümsek parçalar - İleri derecede yaşlanmış veya kontamine numuneler
DRIFTS	<50	<50	Karmaşık	- Büyük mikroplastikleri - Birey mikroplastikleri
$\mu$ -Transmitans	>10	<300	Çok karmaşık	- Poliamitleri
$\mu$ -Transflektans	>10	<300	Karmaşık	- Poliamitleri
$\mu$ -ATR	>100	~2	Karmaşık	- Tümsek parçalar - İleri derecede yaşlanmış veya kontamine numuneler
Portatif FTIR	>1000	~2	Kolay	- Küçük mikroplastikleri - Tümsek parçaları - İleri derecede yaşlanmış veya kontamine numuneler

Azaltılmış Toplam Reflektans (ATR) FT-MIR spektroskopisi, mikroplastik analizinde en yaygın kullanılan tekniklerinden biridir. Bu teknik, 2 mm çapa kadar her türlü mikroplastik partikülü için hızlı bir yüzey analiz yöntemidir. Buna göre, ATR çoğunlukla görünür mikroplastikleri için uygundur. Kızılötesi ışını bir kristal içinden yönlendirilir ve iç kenarlarından birçok kez tamamen yansıtılır (optik fiberlere benzer şekilde). Bu kristal üzerine bir mikroplastik parçacığı bastırılırsa, çok az miktarda kızılötesi ışını hafifçe nüfuz eder ve numune ile etkileşime girmektedir. Bunun üzerine artık radyasyon ATR kristaline geri yansıtılır ve şekil 4'te gösterildiği gibi, kızılötesi dedektörüne yönlendirilir (Renner et al., 2017).



Şekil 3 FT-MIR Spektrometresinin prensibi (Renner et al., 2017)



Şekil 4 ATR FT-MIR prensibi (Renner et al., 2017)

FT-MIR kullanarak mikroplastik tanımlanmasında, her polimer oldukça spesifik bir FT-MIR spektrumuna sahiptir. Bilinmeyen bir spektrumu tanımlamak için, tüm

spektrum bir referans spektrum veritabanı ile karşılaştırılmaktadır. Aynı polimerin mikroplastikleri, üretim sürecindeki değişkenlikleri veya çevre ile etkileşimleri nedeniyle benzer ancak aynı olmayan spektrumlara sahiptir. Polimer türlerini tanımlamak için öncelikle bu benzerliklere odaklanılmalıdır. Dolayısıyla, her modern FT-MIR yazılımında kütüphane arama adı verilen ilgili bir karşılaştırma özelliği uygulanmaktadır (Renner et al., 2017).

## 2. Raman Spektroskopisi

Raman spektroskopisi, farklı çevresel numunelerinde mikroplastik parçacıkları yüksek güvenilirlikle tanımlamak için başarıyla kullanılan basit bir tekniktir. Raman spektroskopisi analizi sırasında numuneyi monokromatik bir lazer kaynağı ile ışınlanmaktadır. Lazer kullanılan sisteme bağlıdır. Mevcut lazer dalga boyları genellikle 500-800 nm arasında değişmektedir. Lazer ışığının numunenin molekülleri ve atomları ile etkileşimi (titreşim, dönme ve diğer düşük frekanslı etkileşimleri), ışınlayan lazer frekansı ile karşılaştırıldığında geri saçılan ışığın frekansında farklılıklara neden olmaktadır. Bu sözde Raman kayması tespit edilip maddeye özgü Raman spektrumlarına yol açmaktadır. Plastik polimerleri karakteristik Raman spektrumlarına sahip olduklarından, bu teknik, referans spektrumlarıyla karşılaştırılarak plastik polimerleri dakikalar içinde tanımlamak için uygulanabilmektedir. Raman spektroskopisi bir "yüzey tekniğidir", bu nedenle büyük, görsel olarak sınıflandırılmış mikroplastik parçacıkları analiz edilebilir ve bu teknik ayrıca mikroskopi ile birleştirilebilmektedir. Buna göre, mikro-Raman spektroskopisi, 1 µm'nin altındaki çok küçük plastik partiküllere kadar geniş bir boyut sınıflarının yelpazesinin tanımlanmasına izin vermektedir (Cole et al., 2013). Raman mikroskopisi, Raman spektral görüntüleme ile birleştirilirse, bir örneğin Raman spektrumlarına dayalı olarak boyutsal kimyasal görüntüleri oluşturmak mümkündür. Mikro-Raman görüntüleme teorik olarak tüm membran filtrelerinin 1 µm'nin altındaki boyutsal çözünürlükte spektral analizine izin vermektedir. Bu, çevresel numunelerinde en küçük mikroplastik parçacıkların bile tespitini kolaylaştıracak, ancak mikroplastik araştırmalarının uygulanabilirliği henüz kanıtlanmamıştır. Raman spektroskopisi, biyolojik dokular içindeki polimer partiküllerini hücre altı hassasiyetle yerleştirmek için konfokal lazer tarama mikroskopisi ile de birleştirilebilmektedir (Cole et al., 2013). Raman spektroskopisinin bir dezavantajı, lazer tarafından uyarılan flüoresan numunelerin ölçülememesidir (örn. numunelerde biyolojik kökenli kalıntıları). Bunun

nedeni, bu tip numunelerin yorumlanabilir Raman spektrumlarının oluşmasını önlemesidir. Genel olarak, yüksek bir enerji aktaran daha düşük lazer dalga boyları, yüksek sinyal yoğunluğuna ve aynı zamanda yüksek bir floresansa neden olmaktadır. Daha yüksek dalga boylarına (>1000 nm) sahip lazerler kullanarak floresans azaltılabilir. Yine de lazerin daha düşük enerjisi, polimer numunesinin daha düşük bir sinyali ile sonuçlanmaktadır. Çevresel örneklerinde mikroplastiklerin daha iyi değerlendirilmesi için, bastırılmış flüoresans ve düşük sinyal yoğunluğu arasında bir uzlaşma sağlamak üzere optimum lazer dalga boyunu bulmak için daha fazla araştırma yapılması gerekmektedir. Genel olarak, mikroplastik parçacıklarının polimer tipinin Raman spektroskopisi ile net bir şekilde tanımlanması, ölçümlerden önce floresansı önlemek için numunelerin saflaştırılma adımı gerektirmektedir (Löder and Gerdt, 2015).

Bugüne kadar Raman (1 µm'ye kadar), FTIR'dan (10 µm) daha iyi bir uzamsal çözünürlüğü elde edebilir (Lenz et al., 2015) ancak liflerin tanımlanmasında esas olarak FTIR'a dayanır, çünkü Raman analizleri şimdiye kadar bu tür mikroplastikleri için verimli olmadığı kanıtlanmıştır (Lusher et al., 2017a).

### **3. Piroliz Gaz Kromatografisi/Kütle Spektrometrisi (Py-GC/MS)**

Potansiyel mikroplastik parçacıkların termal bozulma ürünlerini analiz ederek, Piroliz-gaz kromatografisi (GC), kütle spektrometrisi (MS) ile kombinasyon halinde bu parçacıkların kimyasal bileşimini değerlendirmek için kullanılabilir (Fries et al., 2013). Plastik polimerlerin pirolizi (yüksek sıcaklıklarda bozulması), polimer tipinin tanımlanmasını kolaylaştıran karakteristik pirogramlarla sonuçlanmaktadır. Mikroplastiklerin tortulardan çıkarılması ve görsel olarak sınıflandırılmasından sonra, bu analitik yaklaşımı zaten kullanılmaktadır. Daha sonra, karakteristik yanma ürünlerini bilinen polimer numunelerinin referans pirogramları ile karşılaştırılarak, partiküllerin polimer orijini tanımlanmaktadır (Nuelle et al. 2014; Fries et al. 2013). Son pirolizden önce bir termal desorpsiyon adımı varsa, organik plastik katkı maddeleri, piroliz-GC/MS çalışmaları sırasında aynı anda analiz edilebilmektedir (Fries et al. 2013). Piroliz-GC/MS yaklaşımı, potansiyel mikroplastiklerin polimer tipine nispeten iyi bir şekilde atanmasına izin verse de partiküllerin piroliz tüpüne manuel olarak yerleştirilmesi zorunluluğu, bu yaklaşımın bir dezavantajı olarak sayılmaktadır. Yalnızca belirli minimum boyuttaki parçacıkları manuel olarak



manipüle edilebildiğinden dolayı, analiz edilebilecek parçacıkların boyut sınırı düşük olmaktadır. Ayrıca, işlem başına yalnızca bir partikül analiz edilebilir, bu nedenle bu teknik büyük numune miktarlarının işlenmesi için uygun değildir. Herhalde, tüm numune filtreleri üzerinde bulunan mikroplastiklerin kalitatif/kantitatif analizi için, şu anda umut verici piroliz-GC/MS yaklaşımları geliştirilmektedir (Löder and Gerdts, 2015).



#### IV. YAPILAN ÇALIŞMALAR

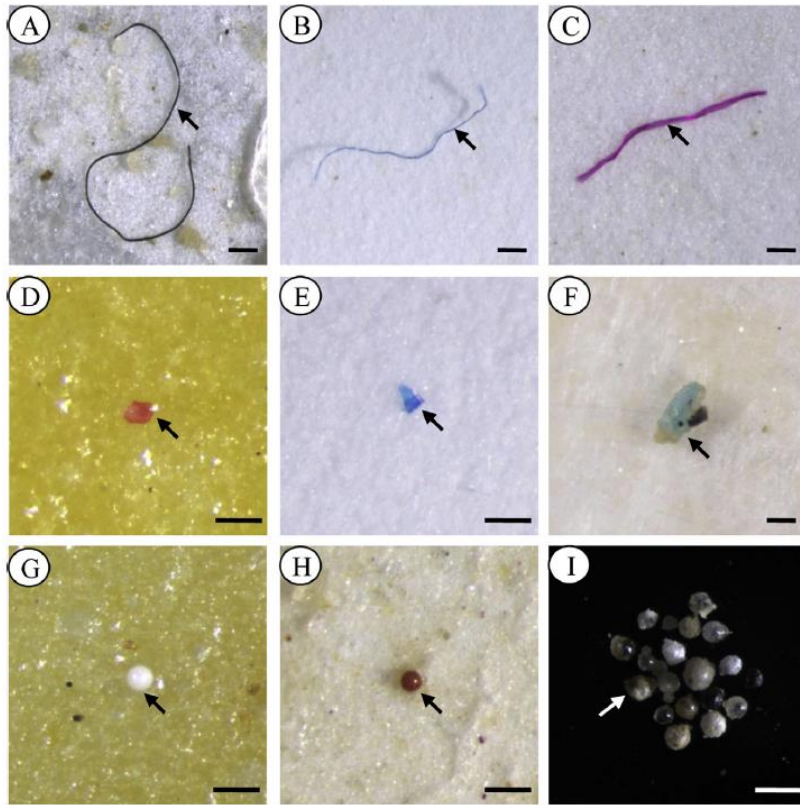
Midye ve istiridye gibi çift kabuklularda, balıklarda veya başka gıda ürünü olarak tüketilen deniz canlılarda mikroplastik kontaminasyonu, dünyanın her tarafından araştırmacıların dikkatini çekmiştir. 2014 yılında Belçika'da ticari amaçla yetiştirilen iki tür çift kabukluda mikroplastiklerin varlığını incelenmiştir. Bu çalışmada incelenen çift kabuklu türleri *Mytilus edulis* midyesi ve *Crassostrea gigas* istiridyesidir. Araştırmacılar her iki türden mikroplastik elde edebilmiştir. *M. edulis* midyesinde  $0,36 \pm 0,07$  parçacık/gram saptanırken, *C. gigas*'ta gramda  $0,47 \pm 0,16$  parçacık saptanmıştır. Avrupa'da kabuklu deniz ürünleri tüketicilerinin yıllık mikroplastik diyet maruziyeti hesaplanmıştır. Buna göre, Avrupa'da kabuklu deniz ürünleri yüksek miktarda tüketen bir kişi, yılda 11 bin mikroplastiğe kadar tüketebilmektedir (Van Cauwenberghe and Janssen, 2014).

Belçika ve Fransa kıyılarında yapılan başka bir çalışmada, mavi midye (*Mytilus edulis*) ve kumkurdu (*Arenicola marina*) türlerinde mikroplastik alımı incelenmiştir. Bu çalışmada ayrıca deniz suyu ve plaj tortusu numunelerinde mikroplastik varlığını değerlendirilmiştir. *M. edulis*, doku gramı başına ortalama  $0,2 \pm 0,3$  parçacık içerirken, *A. marina* doku gramı başına ortalama  $1,2 \pm 2,8$  parçacık içermiştir. Deniz suyu numunelerinde ortalama  $0,4 \pm 0,3$  parçacık/litre bulunmuştur. Plaj tortusu numunelerinde mikroplastik kontaminasyonu kg başına 1,5 ila 23,4 parçacık ve ortalama  $6,0 \pm 5,7$  parçacık olarak tespit edilmiştir. Ekstrakte edilen mikroplastikler, LDPE, HDPE ve PS polimer türlerinden oluşuyordu (Van Cauwenberghe et al., 2015).

Başka bir çalışmada, Rochman ve arkadaşları 2015 yılında iki ülke arasında bir çalışma yapmışlardır. Hem Endonezya'da hem de ABD'de yapılan bu çalışmada, insan tüketimi için satışı sunulan balıklarda ve kabuklu deniz hayvanlarında antropojenik kalıntıların varlığı değerlendirilmiştir. Antropojenik kalıntılar, balıkların sindirim kanallarından ve kabuklu deniz hayvanlarının etinden %10 KOH çözeltisi kullanarak ekstrakte edilmiş ve bir diseksiyon mikroskobu altında incelenmiştir. Endonezya'da incelenen 72 balıktan 21'i (%28) plastik tabiatlı antropojenik kalıntıları içermiştir. ABD'de ise toplanan 64 balıktan 16 tanede (%25) antropojenik kalıntıları bulunmuştur.

Ayrıca, 12 pasifik istiridyesi (*Crassostrea gigas*) incelenmiş ve bunların %33'ünde antropojenik kalıntıları tespit edilmiştir (Rochman et al., 2015).

Li ve arkadaşları 2015 yılında yaptıkları çalışmada, Asya pazarlarındaki dokuz çift kabuklu türü üzerinde mikroplastik varlığını araştırmışlardır. Bu çalışmada mikroplastik tespiti için mikroskop ve  $\mu$ -FTIR yöntemleri kullanılmıştır. Çalışmanın sonucunda yoğun mikroplastik kontaminasyonu olduğu ispatlanmıştır. İncelenen çift kabuklular için toplam mikroplastik sayısı 2,1 ila 10,5 öge / g ve 4,3 ila 57,2 öge / tane arasında değişmektedir. *Scapharca subcrenata* ortalama 10,5 öge / g içeriyordu ve ağırlıkça en yüksek mikroplastik seviyeleri göstermiştir. Şekil 5'te bu çalışmada elde edilen bazı sonuçları gösterilmiştir (Li et al., 2015).



Şekil 5 Çin'de balıkçılık pazarından çift kabuklularında bulunan farklı mikroplastik türleri (A-C) Fibriller; (D-F) Parçacıklar; (G-I) Peletler (Li et al, 2015)

Li ve arkadaşları tarafından yapılan başka bir çalışmada, Çin kıyı şeridindeki 22 bölgeden toplanan midyelerde (*Mytilus edulis*) mikroplastik kirliliği araştırılmıştır. Midye numunelerinde bulunan toplam mikroplastik sayısı 0,9 - 4,6 parça/gram (ıslak ağırlık) ve 1,5 - 7,6 parça/adet arasında değişmiştir. Tüm bölgelerdeki midyelerinde ortalama mikroplastik varlığı 2,2 parça/gram ve 4 parça/adet seviyesindeydi.

Mikroplastiklerin ortalama varlığını yabancı midyelerde 2,7 parça/gram (4,6 parça/adet) ve çiftlik midyelerinde 1,6 parça/gram (3,3 parça/adet) olarak saptanmıştır. Midye dokusunda fibriller, parçacıklar, küreler ve pullar dahil olmak üzere birçok mikroplastik şekli meydana gelmiştir. En yaygın mikroplastik şekli fibrillerdi ve bunu parçacıklar izlemiştir. Fibriller, 18 bölgede toplam mikroplastiklerin %65'inden fazlasını oluşturuyordu. Parçacıkların oranı, toplam mikroplastiklerin %5 ila %67 arasında değişmiştir. 129 plastik benzeri parçacık, görsel olarak tanımlanmış 1519 parçacıktan seçilerek,  $\mu$ -FTIR kullanarak doğrulanmıştır. Selofan (CP), PET ve polyester (PES) dahil olmak üzere çeşitli polimer türleri tanımlanmıştır (Li et al., 2016).

Kanada, British Columbia, Baynes Sound'da yapılan bir çalışmada, yabancı ve kültürlü Manila istiridyelerinde (*Venerupis philippinarum*) bulunan mikroplastik miktarını değerlendirilmiştir. Üç aktif kabuklu deniz hayvan çiftliğinden ve üç referans plajdan toplanan yabancı ve kültürlü manila istiridye numunelerinde mikroplastik kontaminasyonu incelenmiştir. Mikroplastikler, nitrik asit sindirim yöntemi kullanarak izole edilmiş ve toplam 54 istiridye (27 çiftlikten ve 27 plajdan) analiz edilmiştir. Kültürlü istiridye ( $1,7 \pm 1,2$  parçacık/gram) ve yabancı istiridye ( $0,9 \pm 0,9$  parçacık/gram) arasında mikroplastik konsantrasyonlarında önemli bir fark yoktu. Fibriller en yaygın bulunan mikroplastik şekli (%90), ardından filmler (%5,3) ve parçacıklar (%4,7) gelmiştir. Renksiz ve koyu gri fibrilleri en sık gözlenen renkleri (sırasıyla %36 ve %26) (Davidson and Dudas, 2016).

Castro ve arkadaşları Brezilya'da yetiştirilen midyelerdeki mikroplastik kontaminasyon potansiyelini değerlendirmek için, yağmurlu ve kurak mevsimlerde üç farklı istasyondan su numuneleri toplayıp, mikroplastik varlığı araştırmışlardır. Elde edilen sonuçlara göre, her iki mevsimde de renk, tür ve boyut çeşitliliği ile yüksek konsantrasyonda mikroplastik bulunmuştur ( $16,4/m^{-3}$ ). ATR-FTIR ile incelenecek yeterli büyüklükte olan ( $>1$  mm) otuz plastik parçası, kimyasal bileşim analizi için rastgele seçilmiş ve ayrı ayrı analiz edilmiştir. Analiz edilen parçaların spektrumları, numunelerin %72 PE ve %26 PP olduğu göstermiştir. Araştırmacılar, yüksek konsantrasyonda mikroplastik içeren alanların tüketicilere bulaşma riski nedeniyle midye yetiştiriciliği için uygun olmadığı sonucuna varmışlardır. (Castro et al., 2016).

Kahverengi midyesinin (*Perna perna*) plastik aldığı bildirilmiş ve Brezilya'daki Santos halicinden alınan örneklerin yüzde 75'inde mikroplastik görüldüğü kaydedilmiştir (Santana et al., 2016).

Lusher ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, kuzeydoğu Atlantik'te mezopelajik balıkları tarafından mikroplastik yutulması incelenmiştir. Altı aileden toplam 761 balık yakalanmıştır. 761 balıktan 84'ü (%11) sindirim sisteminde plastik bulunmuştur (0,5 ila 11,7 mm arasında değişen boyuta sahip toplam 101 mikroplastik parçacığı). Plastik yutan 84 balıkta, adet başına ortalama 1,2 mikroplastik parçacığı saptanmıştır ( $\pm 0,54$  SD). En yaygın renkler siyah (%42) ve mavi (%34), ardından gri (%10), turuncu (%7), yeşil (%4) ve kırmızı (%3) oldu. Mikroplastik parçacıkları, fibriller (%93) ve fragmanlar (%7) olarak tanımlanmıştır. Mikroplastik yutulmasının bireysel mezopelajik balıkları olumsuz etkileyebilirken, mezopelajik balıkların öfotik bölgeden daha derin sulara hareketi, dünya okyanuslarının maruz kalmayan türlerine ve bölgelerine mikroplastik transferine aracılık edebileceği sonucuna varılmıştır (Lusher et al., 2016).

Almanya'da yapılan bir çalışmada, Kuzey ve Baltık Deniz'lerinden gelen 290 demersal (morina, yassı ve pisi balığı) ve pelajik (ringa ve uskumru) balık türlerinin mide-bağırsak yolunda plastik varlığı araştırılmıştır. Toplam 23 plastik parçacığı tespit edilmiştir. İncelenen 290 balıktan 16'sında (%5,5) plastik yutma meydana gelmiştir. Tespit edilen en küçük mikroplastik parçacık boyutu 180  $\mu\text{m}$  idi. Toplamda altı makroplastik ve 17 mikroplastik parçacığı tespit edilmiştir. Böylece tespit edilen parçacıkların yaklaşık %74 mikroplastikti. 54 görsel olarak önceden sınıflandırılmış potansiyel plastik parçacığından 23'ü, FTIR spektroskopisi ile doğrulanmıştır. Sekiz farklı polimer türü tanımlanabilmiştir. Dokuz PE parçası (yaklaşık %40), beş partikül (%22) PA ve üç PP partikülü (yaklaşık %13) bulunmuştur. İki partikülün PS olduğu doğrulanmıştır. Ayrıca, polimer türü PET, PES, poliüretan (PU) ve kauçuğun her birinden birer tanecik tespit edilmiştir (Rummel et al., 2016).

Japonya'da Tokyo Körfezi'nden toplanan 64 Japon hamsisinin (*Engraulis japonicus*) sindirim kanallarındaki mikroplastik varlığını araştırılmıştır. 64 balıktan 49'unda (%77) plastik tespit edilmiştir (adet başına ortalama 2,3 parça). Mikroplastikler FTIR ile tanımlanmış ve PE (%52,0) ve PP (%43,3) tespit edilen en yaygın polimer türleri olmuştur. Plastiklerin çoğu parçacıklardan oluşuyordu (%86,0).

Ancak, %7,3'ü boncuklar ve bazıları da yüz temizleyicilerde bulunanlara benzer şekilde mikroboncuklar bulunmuştur (Tanaka and Takada, 2016).

2017 yılında, Putra Malaysia üniversitesinde Karami ve arkadaşları, balık dokularından mikroplastik izolasyonu için en verimli protokolü belirlemeye hedefleyen bir çalışma yapmışlardır. Çalışmanın ilk aşamasında, oda sıcaklığında (25 °C), 40, 50 veya 60 °C'de balık dokularının sindiriminde farklı oksidatif ajanların, bazların ve asitlerin etkinliğini ölçmüşlerdir. İkinci aşamada, biyolojik materyallerin sindiriminde etkili olan işlemler, sekiz ana plastik polimerle uyumlulukları açısından değerlendirilmiştir (geri kazanım oranı, Raman spektroskopi analizi ve morfolojik değişiklikler ile). Bu çalışmanın sonuçlarına göre, biyolojik materyalleri %10 KOH solüsyonu ile işlemesi ve 40 °C'de inkübe etmesi hem zaman hem de maliyet açısından etkili, biyolojik materyallerin sindiriminde verimliydi ve plastik polimerlerin bütünlüğü üzerinde hiçbir etkisi olmamıştır. Ayrıca, bu işlemin NaI ekstraksiyonu ile birleştirmesi, mikroplastikleri bütün balık örneklerinden izole etmek için umut verici bir protokol oluşturduğu belirlenmiştir. Sonuçlar ayrıca 1,5 g/mL yoğunluğa sahip 4,4 M NaI konsantrasyonunda test edilen tüm plastik polimerler için optimum bir geri kazanım oranı (>%95) göstermiştir (Karami et al., 2017).

Yunanistan'da yapılan bir çalışmada, midyede (*Mytilus galloprovincialis*) ve üç balık türünde (*Sardina pilchardus*, *Pagellus erythrinus*, *Mullus barbatus*) mikroplastik varlığı araştırılmıştır. Mikroplastik görülme sıklığı midyede %46,3, sardalyada %47,2, pandorada %42,1 ve barbunyada %32,0 olarak bulunmuştur. Mikroplastik bolluğu midyelerde 1,7–2 parça/birey ve balıklarda 1,5–1,9 parça/birey arasında tespit edilmiştir. Mikroplastiklerin çoğu parçacıklardı. FTIR analizi, mikroplastiklerin %20'sinde yapılmış ve FTIR sonuçları, PE midye ve balıklarda en yaygın polimer türü olarak göstermiştir (Digka et al., 2018).

2018 yılında ABD'de deniz agregası ve mavi midye (*Mytilus edulis*) numunelerinde mikroplastik varlığı hakkında bir çalışma yapılmıştır. Organik madde sindirimi için %30 Hidrojen Peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) kullanılmış ve yoğunluk ayrımı NaI kullanarak yapılmıştır. Stereomikroskop altında incelemenden sonra, tüm numunelerde bulunan mikroplastik parçacıkların kimyasal tanımlaması için hem Raman spektroskopisi hem de ATR FTIR yöntemleri kullanılmıştır. 26 deniz agregası örneğinin 19'unda (%73,1) mikroplastik tespit edilmiş ve toplam 85 mikroplastik parçacığı spektrometrik analiziyle doğrulanmıştır. Genel ortalama plastik yükü 1290

$\pm 1510$  parçacık/m<sup>3</sup> idi. Midyelerde toplam 23 mikroplastik parçacığı saptanmıştır. 16 psödofekal numunede üç mikroplastik parçacığı, 37 fekal numunede ise 7 mikroplastik parçacığı tespit edilmiştir. Genel olarak, doku numuneleri için mikroplastik sıklığı 0,0 ila 5,1 parçacık/gram ve 0,0 ila 2 parçacık/adet arasında değişiyordu. *M. edulis* tarafından yakalanan parçacıkların ortalama boyutu  $295,5 \pm 245,8$   $\mu\text{m}$  idi ve boyut olarak 47,9 ila 1030,1  $\mu\text{m}$  arasında değişiyordu (Zhao et al., 2018).

Başka bir çalışmada, Kuzey Tunus'ta bulunan Bizerte lagünündeki midye (*Mytilus galloprovincialis*) ve su örneklerinde mikroplastik varlığını değerlendirilmiştir. Organik madde sindirim işlemi %10 KOH solüsyonu kullanarak uygulanmıştır. Ayrıca, mikroplastik parçacıkların yüzdürülmesini sağlamak için NaI solüsyonu kullanılmıştır. Mikroplastik parçacıkların polimer türü ATR FTIR yöntemi ile doğrulanmıştır. Bu çalışmada incelenen 30 midye örneğinden 29'u mikroplastik içerdiği ve tüm su örnekleri mikroplastik ile kontamine olduğu bulunmuştur. Midyelerden (232 adet) ve su örneklerinden (223 adet) toplam 455 adet mikroplastik parçacığı toplanmıştır. Ortalama mikroplastik konsantrasyonu midyeler için  $7,7 \pm 3,8$  parçacık/midye ve su numuneleri için  $0,4 \pm 0,2$  parçacık/litre olarak tespit edilmiştir. Midye örneklerinde fibrillerin hâkim olduğu, ardından fragmanlar, filmler ve peletlerin geldiği bulunmuştur. Midyelerde en çok rastlanan polimer türü PE olup, bunu PP ve selofan izlemiştir (Wakkaf et al., 2020).

2021 yılında Güney Afrika'da yapılan bir çalışmada, Cape Town kentinde süpermarketlerde ve toptancılarda satılan midyelerde mikroplastik varlığı araştırılmıştır. Yumuşak doku %10 KOH solüsyonu kullanarak sindirilmiş ve stereomikroskop altında incelenmiştir. Boyutu  $>500$   $\mu\text{m}$  olan parçacıkların polimer tanımlaması, ATR FTIR spektrometresi kullanılarak yapılmıştır. İşlenen midyelerin %87'sinde toplam 804 mikroplastik kaydedilmiştir. Tanımlanan mikroplastik şekilleri fragmanlar (%70) ve fibrillerdi (%30). Ortalama 0,04 parçacık/g yumuşak doku ve 3,8 parçacık/midye bulunmuştur. En yaygın polimer türü PET olarak belirlenmiştir (Sparks et al., 2021).

Türkiye'de plastik kontaminasyonu sorunu artan ilgi görmektedir. Son yıllarda deniz ürünlerinde mikroplastik varlığı hakkında bazı çalışmalar yapılmıştır. 2020 yılında Gündoğdu ve arkadaşları tarafından Türkiye'de yapılan bir çalışmada, 5 şehirde 41 farklı midye lokantasından toplanan midye dolma örneklerinde mikroplastik varlığını araştırılmıştır. İstanbul, Ankara, İzmir, Bodrum ve Adana



şehirleri kapsayan çalışmada, mikroplastik tespiti için kimyasal sindirim, yoğunluk ayrımı, mikroskop ve Raman spektroskopisi metotları kullanılmıştır. Midye dolmalarındaki ortalama mikroplastik miktarı  $0,6 \pm 0,1$  mikroplastik / midye olarak belirlenmiştir. Beş şehir arasında en fazla mikroplastik miktarı  $0,9 \pm 0,1$  mikroplastik /midye ile İstanbul'da, en az miktar ise Bodrum'da ( $0,3 \pm 0,1$  mikroplastik / midye) bulunmuştur. Bulunan mikroplastikler, fibril %62,7 ve parçacık %37,3 olarak sınıflandırılmıştır (Gündoğdu et al, 2020).

Türkiye kıyılarında toplanan midyelerin mikroplastik kontaminasyonu Gedik ve Eryaşar tarafından 2020 yılında yapılan çalışmada araştırılmıştır. Bu çalışmada, midye numuneleri Karadeniz, Marmara Denizi ve Ege Denizi'nin kıyılarında bulunan 23 farklı noktadan toplanmıştır. Midye numuneleri,  $H_2O_2$  kullanarak kimyasal sindirime tabi tutulmuş ve ortaya çıkan mikroplastikler, stereomikroskopu ile incelenmiş ve FT-IR tekniği kullanarak karakterize edilmiştir. Örneklerin %64'ünde mikroplastik tespit edilmiştir. Mikroplastiklerin ortalama yaygınlığı midye başına 0,69 mikroplastik ve yumuşak doku gramı başına 0,23 mikroplastik olarak değerlendirilmiştir. En yaygın mikroplastik şekli fragmanlar (%67,6), bunu lifler (%28,4) ve filmler (%4,05) izlemiştir. En yaygın boyut aralığı 1 mm'den küçük parçacıklardır (%26,58). FT-IR analiziyle, toplam mikroplastiklerin %80'ini oluşturan PET (%32,9), PP (%28,4) ve PE (%19,4) olmak üzere 12 farklı polimer türü tespit edilmiştir. Türkiye'de midye tüketicileri için yıllık ortalama maruziyet miktarı 1918 mikroplastik/yıl olarak hesaplanmıştır (Gedik ve Eryaşar, 2020).

Türkiye'de yapılan başka bir çalışmada, Türkiye'nin batısında Ege Denizi'ndeki İzmir Körfezi'nden toplanan midye, oluklu halı kabuğu ve su örneklerinde mikroplastik varlığı ölçülmüştür. Analiz edilen 60 midye örneğinde, Karşıyaka'dan (İstasyon 1) 895 mikroplastik ve Gülbahçe'den (İstasyon 2) 787 mikroplastik olmak üzere, iki örnekleme istasyonundan toplam 1682 mikroplastik tespit edilmiştir. Birinci istasyondan alınan su numunelerinin 545 mikroplastik içerdiği, ikinci istasyondan alınan su numunelerinin ise 1287 mikroplastik ile çok daha yüksek miktarda içerdiği bulunmuştur. İki istasyon arasındaki bu fark, ilk numune alma istasyonunun yakınında bulunan Çiğli Atıksu Arıtma Tesisine katkıda bulunmuştur (Yozukmaz, 2021).

Gedik ve arkadaşları yaptıkları çalışmada, Marmara denizi kıyı şeridi boyunca 20 bölgeden Akdeniz midyesinin (*Mytilus galloprovincialis*) popülasyonlarında mikroplastik varlığı ve özellikleri araştırmışlardır. 412 midyede toplam 812

mikroplastik tespit edilmiştir. Mikroplastik yaygınlığı 0,30 ila 7,53 parçacık/adet ve 0,11 ila 4,58 parçacık/g taze ağırlık arasında değişiyordu. Tespit edilen en yaygın mikroplastik şekli fibriller (%81,16) olmuştur (çoğunluğu 1 mm'den küçük boyuta sahip). Plastik polimer tipleri FTIR ile doğrulanmış ve 14 farklı polimer türü tanımlanmıştır. PET en yaygın polimer türü olarak belirlenmiştir (%66,38) (Gedik et al., 2022).

## V. MATERYAL VE METOT

### A. Materyal

#### 1. Midye Örnekleri

Bu çalışma yabani Akdeniz midyesi (*Mytilus galloprovincialis* Lamarck, 1819) örnekleri üzerinde yapılmıştır. Şekil 6'da *Mytilus galloprovincialis* midyesinin görünümü gösterilmiştir (Antunes, 2014). Şekil 7'de ise Midye organları görülmektedir (Karademir, 2018).



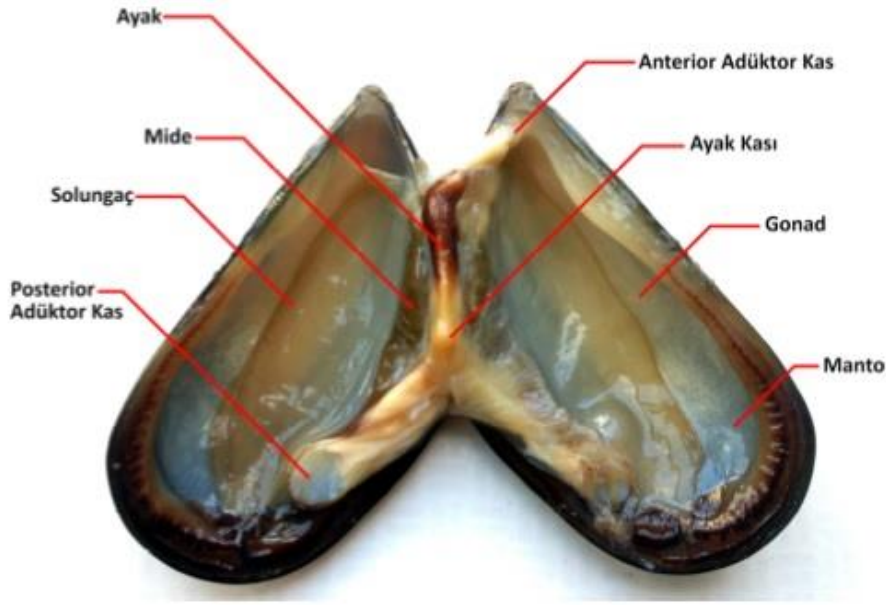
Şekil 6 *Mytilus galloprovincialis* midyesinin görünümü (Antunes, 2014)

#### 2. Kullanılan Kimyasal Maddeleri

- Potasyum Hidroksit - Pelet Analytic grade - Tekkim 150411.01002.
- Sodyum İyodür - Tekkim 201110.00250.

#### 3. Kullanılan Laboratuvar Cihazları

- Bandelin Sonorex RK255 H su banyosu.
- Binder ED-53 06 04656 fansız etüv cihazı.
- BRUKER Invenio S ATR FTIR Cihazı.
- Hassas terazi.



Şekil 7 Midye organları (Karademir, 2018)

- Jusion 2K HD 2560x1440P USB Dijital Mikroskobu
- Nüve NF 400R masa üstü santrifüj cihazı.
- Sartorius Stedim 16692 vakum pompası.
- Scilogex/SK-O330-Pro orbital çalkalayıcısı.

#### 4. Diğer Gereçler

- Whatman Grade 541 Filtre kağıdı (22 µm gözenek boyutu).
- %100 pamuk laboratuvar önlüğü.
- Nitril pudrasız eldiven.

#### B. Metot

##### 1. Metot Validasyonu

Çalışmada uygulanacak adımların validasyonu için, numune analizleriyle başlamadan önce bir ön-çalışma yapılmıştır. Ön-çalışmada toplam 20 adet midye işlenmiştir. Daha önce temin edilmiş mikroplastik parçacıkları midye numunelerine eklenmiştir. Baz muamelesi ve yoğunluk ayırımından sonra eklenen mikroplastiklerin geri kazanım oranlarını hesaplanarak, yapılan işlemin doğruluğu ve verimliliğinden emin olunmuştur.

Midyeler laboratuvara gelince cam kaplarından çıkarılmış ve hayvanın dış yüzeyi üç kez distile su ile yıkanmıştır. Midyeler diseke edilmiş ve her midyenin ağırlığı, uzunluğu, genişliği ve midye etinin ağırlığı kaydedilmiştir. Çizelge 5'te işlenen midye bilgilerini görmektedir.

Çizelge 5 Ön-çalışmada işlenen midye bilgileri

Numune no	Ağırlık (gr)	Uzunluk (mm)	Genişlik (mm)	Midye etinin ağırlığı (gr)	Alt-numune no	Alt-numune Ağırlığı (gr)
1	9,174	45	26	2,65	1	17,33
2	11,3	57	29	3,33		
3	9,6	55	30	2,86		
4	13,62	59	34	4,37		
5	18,42	66	35	4,12		
6	12,97	56	30	4,06	2	32,84
7	12,38	49	32	3,63		
8	34,13	77	48	10,28		
9	25,27	74	37	8,13		
10	22,98	64	34	6,74		
11	13,3	65	36	4,6	3	19,92
12	9,88	50	27	2,57		
13	23,8	71	38	5,66		
14	9,29	49	29	2,71		
15	17,42	67	33	4,38		
16	13,12	56	29	2,93	4	22,14
17	13,27	58	32	4,38		
18	20,75	60	35	5,37		
19	9,64	51	29	2,86		
20	28,11	79	37	6,6		

Her alt-numuneye yaklaşık 0,5 gram seçilmiş mikroplastik parçaları eklenmiştir. Eklenen mikroplastik miktarı Çizelge 6'da gösterilmiştir.

Çizelge 6 Eklenen mikroplastik miktarı

Alt-numune no	Plastik miktarı (gr)
1	0,542
2	0,513
3	0,533
4	0,581

#### a. Baz muamelesi işleminin validasyonu

KOH (%10 w/v) çözeltisi, KOH peletlerinin distile suda çözülmesiyle hazırlanır. 1000 ml'lik çözelti için: 500 ml distile suya 100 g KOH eklenir ve kristaller tamamen eriyene kadar karıştırılır. Hacmi 1000 ml yapmak için kalan distile su ilave edilir. Her

alt-numuneye, 1:10 w/v (1:10 ağırlık/hacim) oranında %10 KOH solüsyonu ilave edilmiştir (Örneğin 17,33 gramlık birinci alt-numune için 173 ml solüsyon kullanılmıştır). Cam beherler, kontaminasyonu önlemek için alüminyum folyo ile düzgün bir şekilde kapatılmış ve küçük etüve 40 °C'de 48 saat konulmuştur. Daha yüksek sindirim verimliliği elde etmek için, beherler 24 saat sonra çıkarılmış ve kısaca çalkalanmıştır. Elde edilen baz muamelesi ürünü Whatman No. 541 filtreleri kullanarak filtrelenmiş ve filtre membranları, sonraki analizi için kullanılana kadar cam petri kutularına yerleştirilmiştir. Şekil 8'de filtreleme işlemi, Şekil 9'da ise elde edilen filtreler gözükmektedir.



Şekil 8 Filtreleme işlemi

İkinci ve dördüncü alt-numuneler için filtreleme sırasında tıkanma olmuştur. Filtreleme işlemi devam edebilmesi için yeni bir filtre kullanılmıştır. İkinci alt-numune için toplam 2 adet filtre, dördüncü alt-numune için ise toplam 3 adet filtre kullanılmıştır.

Baz muamelesi işleminden sonra mikroplastiklerin geri kazanım oranı hesaplamak için, aşağıdaki formül kullanılmıştır:

$$\text{Geri kazanım (\%)} = ((W_a - W_b) / W_i) \times 100$$

Burada  $W_a$  = Filtrelemeden sonra kuru filtrenin ağırlığı,  $W_b$  = Filtrelemeden önceki kuru filtrenin ağırlığı ve  $W_i$  = Eklenmiş Mikroplastiklerin başlangıç ağırlığı.

Baz muamelesinden sonra geri kazanım oranı Çizelge 7'de görülmektedir.

Çizelge 7 Baz muamelesinden sonra geri kazanım oranı

Alt-numune no	*Wa (gr)	**Wb (gr)	***Wi (gr)	Geri kazanım oranı (%)
1	0,8355	0,2983	0,542	99
2 (birinci filtre)	1,1725	0,2975	0,513	115
2 (ikinci filtre)		0,2820		
3	0,8626	0,3005	0,533	105
4 (birinci filtre)	1,541	0,2838	0,581	111
4 (ikinci filtre)		0,2983		
4 (üçüncü filtre)		0,3121		

\*Wa = Filtrelemeden sonra kuru filtrenin ağırlığı; \*\*Wb = Filtrelemeden önceki kuru filtrenin ağırlığı; \*\*\*Wi = Eklenmiş Mikroplastiklerin başlangıç ağırlığı



Şekil 9 Elde edilen filtreler

Dışarıdan gelen olası kontaminasyonu, işlenen midyelerde zaten bulunan mikroplastik ve diğer maddelerden veya filtrelerin ağırlığı alındığında filtrenin tamamen kuru olmadığından dolayı, bazı alt numunelerin geri kazanım oranları %100'den fazla çıkmıştır.

#### **b. Yoğunluk ayrımı işleminin validasyonu**

Yoğunluk ayrımında 4,4 M NaI solüsyonu (1,5 g/mL) kullanılmıştır. 500 ml 4,4 M NaI solüsyonu hazırlamak için 200 ml distile suya 329,767 gram NaI ilave edilmiş ve kristaller tamamen eriyene kadar karıştırılmıştır. Hacmi 500 ml yapmak için distile

su ilave edilmiştir. NaI solüsyonu balon jodede hazırlanmıştır. Şekil 10'da NaI solüsyonun hazırlanması gözükmektedir.



Şekil 10 NaI çözelti hazırlaması

Baz muamelesi adımından elde edilen filtre membranları, 10-15 mL 4,4 M NaI solüsyonu ile doldurulmuş küçük beherlere aktarılmıştır. Beherler, 10 dakika boyunca 35 kHz'de sonikasyona tabi tutulmuş, ardından 5 dakika boyunca 200 dakikada devir (rpm) hızında orbital çalkalayıcısı üzerinde çalkalanmıştır. Çözelti, 2 dakika boyunca 500 rpm'de santrifüj edilmiş ve süpernatant, bir toplama şişesinde toplanmıştır. Pelet 10-15 mL NaI solüsyonunda yeniden süspanse edilmiş, sonikasyona tabi tutulmuş, ajite edilmiş ve daha önce tarif edildiği gibi santrifüj edilmiştir. Bu işlem toplam üç kez tekrarlanmıştır. Süpernatantlar bir laboratuvar şişesinde toplanıp, Whatman No. 541 filtreleri kullanarak filtrelenmiştir. Elde edilen filtreler Şekil 11-14'te görülmektedir.

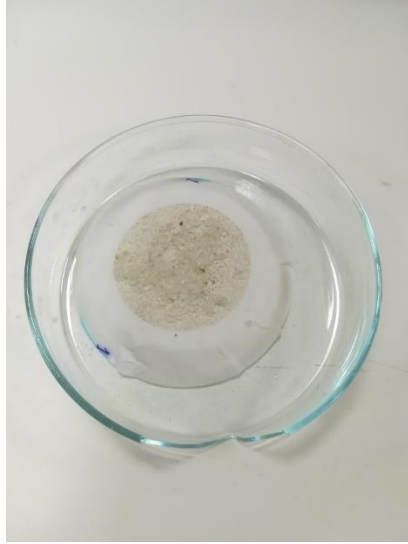
Yoğunluk ayırımı işleminden sonra mikroplastiklerin geri kazanım oranı hesaplamak için, aşağıdaki formül kullanılmıştır:

$$\text{Geri kazanım (\%)} = ((W_a - W_b) / W_i) \times 100$$

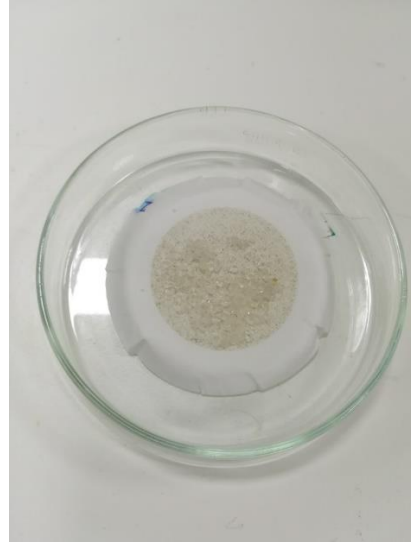
Burada  $W_a$  = Filtrelemeden sonra kuru filtrenin ağırlığı,  $W_b$  = Filtrelemeden önceki kuru filtrenin ağırlığı ve  $W_i$  = Eklenmiş Mikroplastiklerin başlangıç ağırlığı.

Yoğunluk ayırımından sonra geri kazanım oranı Çizelge 8'de görülmektedir.

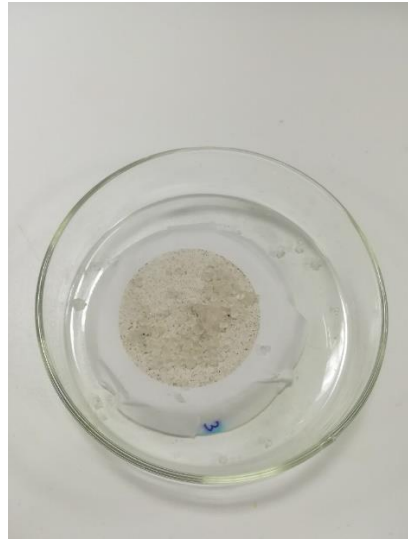




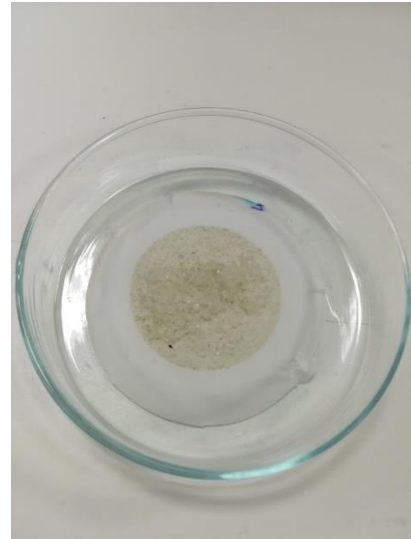
Şekil 11 Alt numune 1



Şekil 12 Alt numune 2



Şekil 13 Alt numune 3



Şekil 14 Alt numune 4

Çizelge 8 Numune sindiriminden sonra geri kazanım oranı

Alt-numune no	*Wa (gr)	**Wb (gr)	***Wi (gr)	Geri kazanım oranı (%)
1	0,9084	0,2984	0,542	112
2	0,865	0,2996	0,513	110
3	0,8736	0,2887	0,533	110
4	0,9435	0,2876	0,581	113

\*Wa = Filtrelemeden sonra kuru filtrenin ağırlığı; \*\*Wb = Filtrelemeden önceki kuru filtrenin ağırlığı; \*\*\*Wi = Eklenmiş Mikroplastiklerin başlangıç ağırlığı

Dışarıdan gelen olası kontaminasyonu, işlenen midyelerde zaten bulunan mikroplastik ve diğer maddelerden veya filtrelerin ağırlığı alındığında filtrenin tamamen kuru olmadığından dolayı, geri kazanım oranları %100'den fazla çıkmıştır.

### **c. FTIR metot validasyonu**

FTIR prosedürünün validasyonu için, polimer türü bilinen mikroplastikleri içeren pozitif kontroller kullanılmıştır. PP'den toplam 4 pozitif kontrolü hazırlanmıştır. Pozitif kontrolleri partikül boyutuna göre sınıflandırılmıştır: pozitif kontrol 1: 1 mm, pozitif kontrol 2: 500 µm, pozitif kontrol 3: 300 µm ve pozitif kontrol 4: 200 µm. PP peletleri yerel bir kimyasal madde satıcısından (Smart Kimya Ltd. Şti.) satın alınmış ve %100 PP'den yapılmıştır. İstenen parçacık boyutunu elde etmek için PP peletleri bir cam blenderde öğütülmüştür. Elde edilen plastik tozu mikroskop altında incelenmiş ve istenilen parçacıkları ölçülüp, sonraki analizi için izole edilmiştir.

Pozitif kontrollerin polimer türünü belirlemek için Bruker Invenio S ATR FTIR cihazı kullanılmıştır. Spektrumlar 4000 ile 400  $\text{cm}^{-1}$  arasında değişen dalga sayısında ve önceki çalışmalarda olduğu gibi 4  $\text{cm}^{-1}$ 'e ayarlanmış bir çözünürlükte kaydedilmiştir (Avio et al., 2017; Zhao et al., 2018; Sparks et al., 2021; Wakkaf et al., 2020). Her numune analizinden önce, numune tutucu ve ATR kristali etanol ile temizlenmiş ve her analizden sonra bir arka plan taraması yapılmıştır. Plastik parçacıkları ince bir cımbız kullanarak ve bir dijital mikroskobu yardımıyla FTIR üzerine yerleştirilmiş ve elmas kafaya karşı sıkıştırılmıştır. Her pozitif kontrolü için 16 tarama uygulanmış (Wakkaf et al., 2020) ve tarama sonuçları kaydedilmiştir. Ayrıca, negatif kontrolü için, cihazın numune tutucusu boşken 16 tarama yapılmıştır. Taramalardan elde edilen FTIR spektrumları, cihaz üreticisinden sağlanan OPUS v8.5 yazılımı kullanarak tanımlanmıştır. Polimer türlerini doğrulamak için, elde edilen spektrumları cihaz üreticisinin kütüphanesinde saklanan verilerle karşılaştırılmıştır (Bruker Optics ATR-Polimer Kütüphanesi). Tarama sonuçları cihaz kütüphanesindeki PP referans spektrumu ile eşleştğinde "tespit edildi" (+), cihaz kütüphanesindeki herhangi bir referans spektrumuyla eşleşmediğinde ise "tespit edilmedi" (-) olarak rapor edilmiştir. Her pozitif ve negatif kontrolü için yapılan tarama sonuçları aşağıdaki çizelge 9'da özetlenmiştir.

Çizelge 9 Pozitif ve negatif kontrolü için yapılan 16 taramanın sonuçları

Numune No	Yapılan Tarama No															
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
PK1 (1 mm)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
PK2 (500 µm)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
PK3 (300 µm)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
PK4 (200 µm)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+
Negatif Kontrol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

PK: Pozitif kontrol; + : Tespit edildi; - : Tespit edilemedi

### i. Validasyon parametrelerinin hesaplanması

Bu çalışmanın validasyon parametreleri, T.C. Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı'nın Kimyasal ve Fiziksel Analizlerde Metot Validasyonu/Verifikasyonu rehberinde bulunan bilgilerinden faydalanarak hesaplanmıştır (Alper et al., 2018).

### ii. Hassasiyet (SE)

Bir metodun hassasiyet değeri, pozitif olarak çıkması beklenen sonuçlardan pozitif olanların, toplam pozitif olarak çıkması beklenen sonuçlara oranı olarak tanımlanabilmektedir. Elde edilenle beklenen sonucun karşılaştırılmasında hassasiyet şuna göre hesaplanır:

$$SE = N_{11}/N_{1\_}$$

$$\text{Rölatif SE (\%)} = 100 \times N_{11}/N_{1\_}$$

-  $N_{11}$ : Gerçekte pozitif olup, analiz sonucunda da pozitif saptanan tarama sayısı

-  $N_{1\_}$ : Gerçekte pozitif olan toplam tarama sayısı

$$\text{Rölatif SE} = 100 \times 63/64 = \%98,437$$

### iii. Doğruluk (RA)

Doğruluk, bir analizde beklenen sonuçlar ile çıkan sonuçların uyum derecesi olarak hesaplanabilmektedir.

$$RA = (N_{11} + N_{22})/N$$

$$\text{Rölatif RA (\%)} = 100 \times (N_{11} + N_{22})/N$$

- $N_{11}$ : Gerçekte pozitif olup, analiz sonucunda da pozitif saptanan tarama sayısı
- $N_{22}$ : Gerçekte negatif olup, analiz sonucunda da negatif saptanan tarama sayısı
- $N$ : Çalışmada uygulanan toplam tarama sayısı

$$\text{Rölatif RA} = 100 \times (63 + 16)/80 = \%98,75$$

#### iv. Özgüllük (SP)

Özgüllük hesaplamak için, negatif olarak beklenen sonuçlardan negatif olarak çıkanların, toplam negatif olarak beklenenlere oranı kullanılmaktadır. Özgüllük değeri hesaplamak için negatif kontrol tarama sonuçları kullanılmıştır.

$$SP = N_{22}/N_{2\_}$$

$$\text{Rölatif SP} = 100 \times N_{22}/N_{2\_}$$

- $N_{22}$ : Gerçekte negatif olup, analiz sonucunda da negatif saptanan tarama sayısı
- $N_{2\_}$ : Gerçekte negatif olan toplam tarama sayısı

$$\text{Rölatif SP} = 100 \times 16/16 = \%100$$

#### v. Gözlenen ve beklenen sonuçların uyumu

Cohen's Kappa Coefficient değeri, beklenen sonuçlar ile validasyonu çalışmasında elde edilen sonuçların istatistiksel olarak %90 güven aralığında ne oranda uyumlu olduğunu belirlemek amacıyla kullanılmaktadır. Kappa değeri aşağıdaki formüle göre hesaplanır:

$$\text{Kappa (K)} = (p_0 - p_e)/(1 - p_e)$$

$$p_0 = (N_{11} + N_{22})/N$$

$$p_e = (N_{1\_} \times N_{\_1}) + (N_{2\_} \times N_{\_2})/N^2$$

- $N_{11}$ : Gerçekte pozitif olup, analiz sonucunda da pozitif saptanan tarama sayısı
- $N_{22}$ : Gerçekte negatif olup, analiz sonucunda da negatif saptanan tarama sayısı
- $N_{1\_}$ : Gerçekte pozitif olan toplam tarama sayısı
- $N_{2\_}$ : Gerçekte negatif olan toplam tarama sayısı
- $N_{\_1}$ : Analiz sonucunda pozitif saptanan toplam tarama sayısı
- $N_{\_2}$ : Analiz sonucunda negatif saptanan toplam tarama sayısı

- N: Çalışmada kullanılan toplam tarama sayısı

K değeri aşağıdaki gibi değerlendirilmektedir:

$K \leq 0,20 \rightarrow$  Zayıf uyum

$K 0,21-0,40 \rightarrow$  Kötü uyum

$K 0,41-0,60 \rightarrow$  Orta uyum

$K 0,61-0,80 \rightarrow$  İyi uyum

$K \geq 0,80 \rightarrow$  Çok iyi uyum

Bu validasyon çalışmasında analiz edilen pozitif ve negatif kontrollerin K değeri aşağıdaki gibi hesaplanmıştır:

$$K = (p_0 - p_e)/(1 - p_e)$$

$$p_0 = (N_{11} + N_{22})/N = (63 + 16)/80 = 0,9875$$

$$p_e = (N_{1\_} \times N_{\_1}) + (N_{2\_} \times N_{\_2})/N^2 = (64 \times 63) + (16 \times 16)/6400 = 0,67$$

$$K = (0,9875 - 0,67)/(1 - 0,67) = 0,3175/0,33 = 0,962 \geq 0,80 \rightarrow \text{Çok iyi uyum}$$

McNemar Chi-kare testi, elde edilmesi beklenen ve elde edilen sonuçlar arasında istatistiksel olarak bir fark bulunup bulunmadığını tespit etmek için kullanılmaktadır.  $X^2$  (Chi-kare) değeri 3,84 ve üzerinde çıkarsa, %95 güven aralığında beklenen ve elde edilen sonuçlar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı anlamına gelmektedir.  $X^2$  (Chi-kare) değeri aşağıdaki formüle göre hesaplanır:

$$X^2 = (|N_{12} - N_{21}| - 1)^2 / (N_{12} + N_{21})$$

- N<sub>12</sub>: Gerçekte pozitif olmasına rağmen, analiz sonucunda negatif saptanan tarama sayısı

- N<sub>21</sub>: Gerçekte negatif olmasına rağmen, analiz sonucunda pozitif saptanan tarama sayısı

Chi-kare değeri aşağıdaki gibi değerlendirilmektedir:

$X^2 < 3,84 \rightarrow$  Pozitiflerin oranı, beklenenlerden istatistiksel olarak önemli ölçüde farklı değildir (%95 güvenle)

$X^2 \geq 3,84 \rightarrow$  Pozitiflerin oranı, beklenenlerden istatistiksel olarak önemli ölçüde farklıdır (%95 güvenle)

Bu validasyon çalışmasında analiz edilen pozitif ve negatif kontrollerin Chi-kare değeri aşağıdaki gibi hesaplanmıştır:

$$X^2 = (|N_{12} - N_{21}| - 1)^2 / (N_{12} + N_{21})$$

$X^2 = (|1 - 0| - 1)^2 / (1+0) = 0 < 3,84 \rightarrow$  Pozitiflerin oranı, beklenenlerden istatistiksel olarak önemli ölçüde farklı değildir (%95 güvenle)

#### **vi. Minimum tespit sınırı (LOD)**

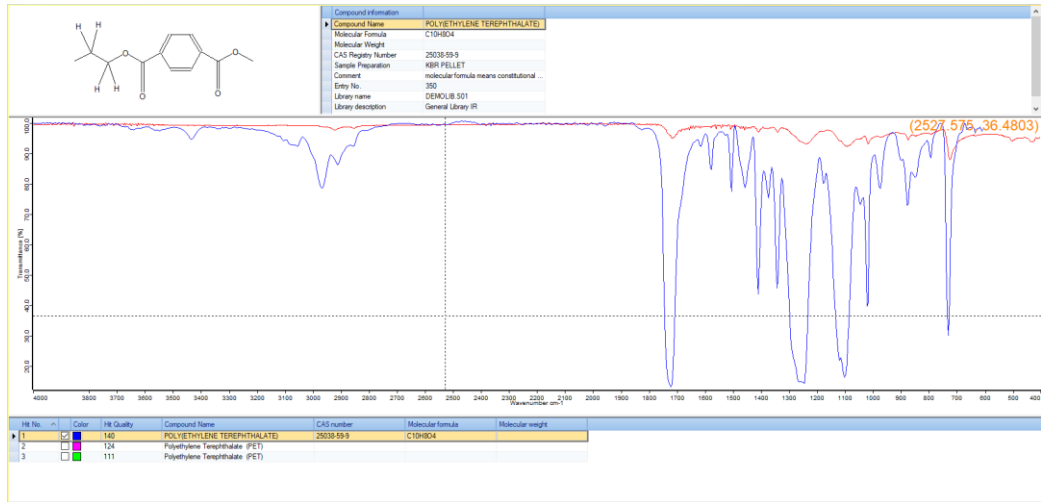
LOD bir metodun hedef analiti doğru ve güvenilir olarak saptayabildiği en küçük seviyedir. Bu validasyon çalışmasında analiz edilecek plastik parçacıkları elle, ince bir cımbız kullanarak ve dijital mikroskobu yardımıyla FTIR cihazına yerleştirilmiştir. Yapılan deneylere göre, 200 µm 'dan küçük parçacıkları bu şekilde cihaza yerleştirilmesi parçacığın çok küçük hacminden dolayı mümkün değildir. Dolayısıyla, bu çalışmada 200 µm 'dan küçük tüm plastik parçacıkları ihmal edilmiş ve bu parçacık boyutu bu çalışmanın minimum tespit sınırı olarak kabul edilmiştir.

$$LOD = 200 \mu m$$

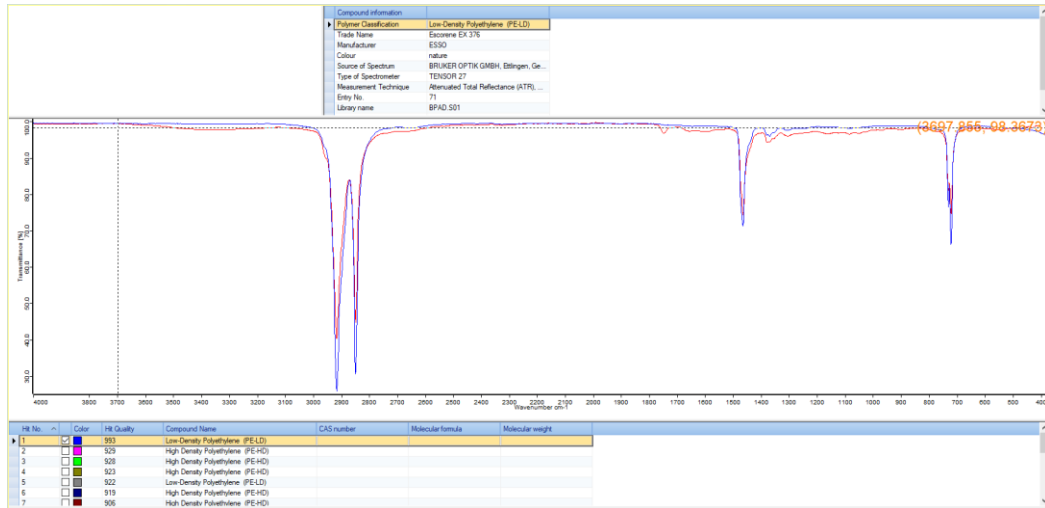
#### **vii. Karışık numune çalışması**

Çalışmada kullanılan ATR FTIR cihazının birden fazla polimer türü içeren bir karışık numunenin analiz edip edemediği ispatlamak için, bir karışık numune çalışması yapılmıştır. Bu çalışmada 4 yaygın kullanılan plastik polimer türü kullanılmıştır (PET, PE, PP ve PVC). Kullanılan plastikler önce tek tek olarak analiz edilmiştir. Analiz edilen her plastik türü cihazda saptanabilmiştir (Şekil 15-18).

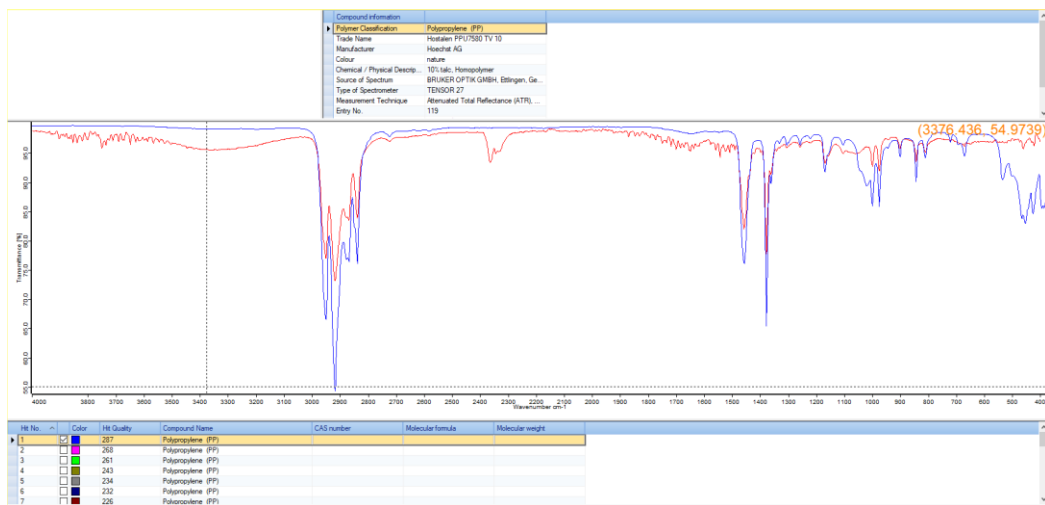
PET ve PP olmak üzere, iki polimer türü içeren bir karışık numune analizi yapılmıştır. Bu analizin sonucunda iki polimerin spektrumları saptanabilmiştir (Şekil 19).



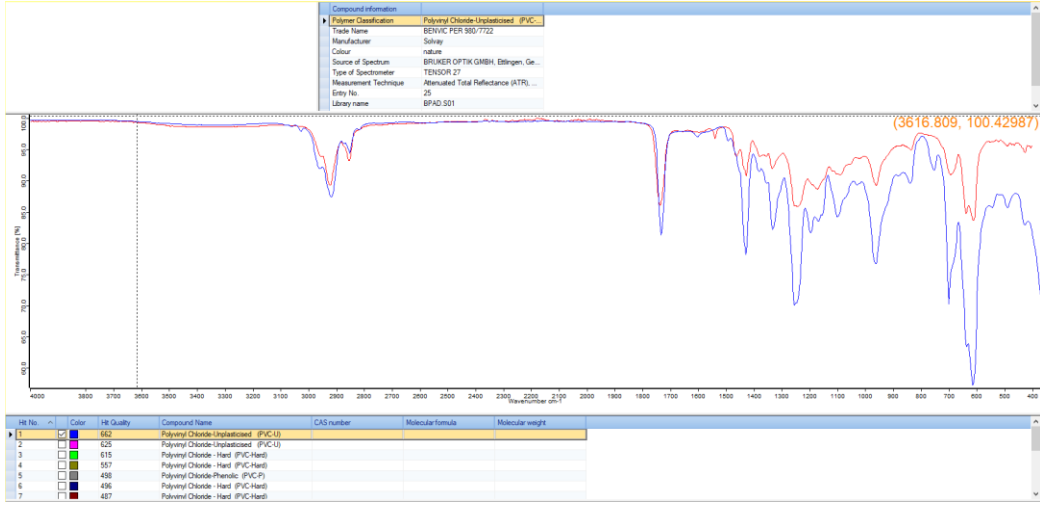
Şekil 15 PET spektrumu



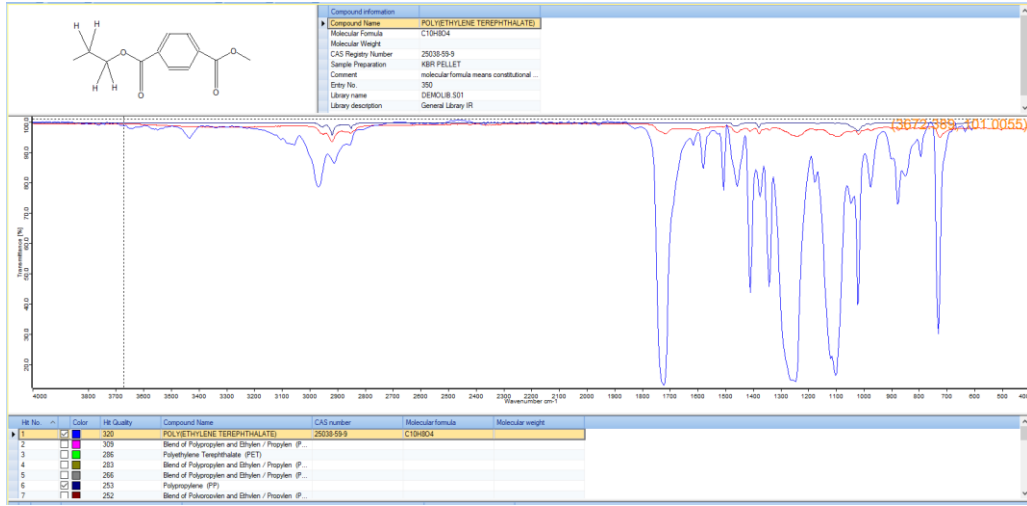
Şekil 16 PE spektrumu



Şekil 17 PP spektrumu



Şekil 18 PVC spektrumu



Şekil 19 Karışık numune analizi (PET ve PP)

## 2. Örnekleme

Bu çalışmada işlenen midye numuneleri iki farklı zamanda İstanbul'un Sarıyer ilçesinden midye satış yerlerinden toplanmıştır. Midyeler taze, aynı gün avlanmış ve depürasyon olmamış şekilde alınmıştır. Numuneler çiftlikten değil, yabani midye olarak toplanmıştır. Numune toplama zamanlarının Türkiye'de denizlerde su ürünleri av yasağı döneminde olmamasına dikkat edilmiştir.

Toplam 120 adet midye iki farklı zamanda toplanmış (her seferde 60 adet) ve her 4 adet midye bir alt-numune olarak işlenmiştir (Li et al, 2015, 2016; Van Cauwenberghe and Janssen, 2014; Van Cauwenberghe et al., 2015). Bu durumda toplam 30 alt-numune işlenmiştir (Şekil 20).





Şekil 20 Örnekleme

Örnekleme yeri: İstanbul - Sarıyer - Rumeli Kavağı Balıkçılar Limanı.

Birinci örnekleme zamanı: birinci örnekleme 09.03.2022 tarihinde saat 14:00'te yapılmıştır.

İkinci örnekleme zamanı: ikinci örnekleme 14.09.2022 tarihinde saat 09:27 yapılmıştır. Örnekler hemen alındıktan sonra cam kavanozlara yerleştirip, buz üzerinde saklanmış ve 2 saat içinde laboratuvara götürülmüştür. Tüm örnekler laboratuvara gelince hemen buzdolabında  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de dondurulmuştur.

### 3. Numune Taşıma ve Saklama

- Yakalama anı ile laboratuvardaki inceleme arasında örnekler buz üzerinde saklanmalı veya  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de dondurulmalıdır.
- Kontaminasyonu önlemek için numunelerin taşınmasında cam kapları kullanılmıştır. Cam kaplar iyice kapatılmış ve laboratuvara gelinceye kadar açılmamıştır.
- Midyeleri içeren cam kapları sonraki analiz yapılana kadar  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de saklanmıştır.

### 4. Laboratuvar Hazırlığı

- Numune işlemeye başlamadan önce, tüm materyaller, ekipman ve laboratuvar yüzeyleri, distile su ile 3 kez iyice yıkanmış ve durulanmıştır.
- Tüm sıvılar ve solüsyonlar kullanmadan önce filtrelenmiştir.

- Tüm malzemeler temiz hava koşullarında muhafaza edilmelidir. Numunelerin işlenmesi temiz hava koşullarında (laminer akış kabini) yapılmıştır. Numuneler ağzı kapatılmadan temiz hava cihazından çıkarılmamalıdır.
- Hava kaynaklı kontaminasyonu önlemek için, numuneleri içeren tüm laboratuvar malzemeleri (beher, erlen vs.) işlenmediğinde alüminyum folyo ile kapatılmıştır.
- Araştırmacıların kıyafetleri, numunelerin işlenmesi sırasında önemli bir kontaminasyon kaynağı olabilmektedir. Araştırmacıların giysilerinden kaynaklanan ek kontaminasyonu, yalnızca pamuk gibi %100 doğal lifli giysiler giyilerek kolayca önlenabilir. Deneyler sırasında pamuklu laboratuvar önlükleri, nitril eldiven ve yüz maskesi giyilmiştir.

## **5. Negatif Kontrol**

Herhangi bir olası dış kontaminasyonu hesaba katmak için, her numune için bir negatif kontrol dahil edilmiş ve numune işlemine paralel olarak işlenmiştir. Negatif kontrollerde tespit edilen mikroplastik parçacıkların şekil, boyut ve renge göre karakterize edilmiştir. Numune filtrelerinin mikroskopik inceleme sırasında, elde edilen tüm parçacıkların özellikleri (şekil, boyut ve renk) kaydedilmiştir. Negatif kontrollerde tespit edilen parçacıklarının özelliklerine uyan parçacıkları analizden çıkarılmıştır.

## **6. Numune Muamelesi**

Numune hazırlama ve muamelesi İstanbul Aydın Üniversitesi (İAÜ) Gıda Teknolojisi Laboratuvarında yapılmıştır. Analizden önce midye içeren cam kapları buzdolabından çıkarılarak oda sıcaklığında çözülmeye bırakılmıştır. Midyeler tamamen çözüldükten sonra, cam kaplarından çıkarılmıştır. Hayvanın dış yüzeyinde bulunan kalıntı, kum veya taşları temizlemek için, örnekler üç kez distile su ile yıkanmıştır. Yıkama işleminden sonra, her midyenin ağırlığı, boyu ve genişliği kaydedilmiştir. İşlenen midyelerin bilgileri çizelge 10-12'de görülmektedir.

Çizelge 10 Midye bilgileri / Alt-numune 1-10

Numune no	Uzunlun (mm)	Genişlik (mm)	Ağırlık (gr)	Midye etinin ağırlığı (gr)	Alt-numune no	Alt-numune ağırlığı (gr)
1	57	28	10,607	3,587	1	13,82
2	54	29	9,922	2,768		
3	55	32	12,805	2,886		
4	67	38	19,303	4,579		
5	53	31	13,855	3,689	2	15,66
6	51	28	11,252	3,201		
7	57	32	14,492	2,913		
8	71	36	20,688	5,857		
9	41	25	5,729	1,6	3	14,555
10	56	30	12,259	3,681		
11	57	36	16,143	3,986		
12	66	38	21,112	5,288		
13	64	37	20,513	4,706	4	20,116
14	69	32	20,576	5,04		
15	59	31	16,684	3,39		
16	75	41	29,664	6,98		
17	66	37	14,536	4,435	5	20,625
18	43	26	7,631	1,887		
19	86	43	31,397	8,471		
20	62	35	20,915	5,832		
21	44	24	4,9	1,61	6	17,519
22	63	32	16,616	4,3		
23	60	33	15,454	4,313		
24	74	42	34,674	7,296		
25	82	42	38,2	7,856	7	19,039
26	56	28	13,87	3,921		
27	66	38	24,687	5,315		
28	49	29	9,883	1,947		
29	72	37	18,846	4,351	8	17,57
30	75	37	23,718	6,385		
31	61	32	15,418	3,145		
32	57	28	14,06	3,689		
33	51	26	9,8	2,079	9	17,013
34	73	37	25,73	8,112		
35	58	30	10,54	2,254		
36	68	36	19,627	4,568		
37	66	36	24,534	4,833	10	18,435
38	68	41	23,495	6,183		
39	61	37	16,684	3,737		
40	56	27	13,043	3,682		

Çizelge 11 Midye bilgileri / Alt-numune 11-20

Numune no	Uzunlunluk (mm)	Genişlik (mm)	Ağırlık (gr)	Midye etinin ağırlığı (gr)	Alt-numune no	Alt-numune ağırlığı (gr)
41	49	29	8,775	2,626	11	14,869
42	67	41	27,58	5,934		
43	52	30	11,278	3,411		
44	57	34	12,44	2,898		
45	66	39	18,71	5,768	12	15,114
46	62	38	21,818	4,754		
47	47	29	10,142	2,431		
48	47	26	7,866	2,161		
49	56	30	10,568	3,156	13	16,247
50	76	41	25,013	6,261		
51	63	35	17,921	4,706		
52	46	28	9,451	2,124		
53	55	33	17,473	3,016	14	14,569
54	67	39	17,35	4,368		
55	51	31	10,721	2,716		
56	64	32	19,194	4,469		
57	56	33	14,588	3,616	15	14,731
58	51	32	11,719	2,836		
59	52	28	12,313	2,642		
60	72	34	20,14	5,637		
61	85	46	39,763	7,563	16	15,831
62	47	26	8,9191	2,193		
63	66	37	24,482	3,82		
64	57	34	12,954	2,255		
65	59	33	14,514	3,117	17	15,396
66	49	28	10,207	2,197		
67	77	46	39,375	6,762		
68	61	33	15,253	3,32		
69	52	32	9,689	2,634	18	12,778
70	67	36	25,835	3,383		
71	64	33	24,583	4,536		
72	47	28	8,174	2,225		
73	67	36	23,817	3,69	19	12,744
74	56	32	19,78	3,21		
75	51	24	9,423	1,997		
76	71	34	31,872	3,847		
77	49	27	9,577	2,266	20	18,442
78	57	33	11,942	3,889		
79	58	29	12,248	3,281		
80	84	43	43,461	9,006		

Çizelge 12 Midye bilgileri / Alt-numune 21-30

Numune no	Uzunluk (mm)	Genişlik (mm)	Ağırlık (gr)	Midye etinin ağırlığı (gr)	Alt-numune no	Alt-numune ağırlığı (gr)
81	84	43	39,565	7,429	21	16,265
82	65	36	18,132	4,057		
83	49	27	9,543	2,431		
84	52	29	8,426	2,348		
85	71	37	16,784	3,669	22	17,915
86	78	38	23,179	6,303		
87	66	38	18,277	5,018		
88	67	32	15,203	2,925		
89	40	29	4,665	0,927	23	12,159
90	43	22	5,497	1,103		
91	73	37	27,09	6,02		
92	66	35	15,108	4,109		
93	62	34	15,142	3,918	24	11,633
94	42	29	5,637	1,32		
95	57	33	14,778	2,799		
96	66	37	21,197	3,596		
97	63	32	17,835	2,274	25	14,442
98	65	35	18,94	4,489		
99	49	27	9,384	2,539		
100	75	43	28,652	5,14		
101	46	25	5,835	1,126	26	9,825
102	54	32	13,357	4,704		
103	46	27	6,55	1,438		
104	57	30	11,743	2,557		
105	53	29	10,861	2,464	27	12,736
106	76	43	33,444	6,347		
107	57	33	9,927	2,276		
108	51	27	8,429	1,649		
109	51	29	8,587	1,938	28	8,257
110	48	28	7,422	1,402		
111	60	32	13,072	2,758		
112	54	27	10,661	2,159		
113	51	27	8,105	1,695	29	9,442
114	57	31	10,752	1,987		
115	64	32	17,351	3,54		
116	51	28	8,4	2,22		
117	74	48	29,118	6,36	30	17,214
118	57	29	10,732	2,28		
119	71	41	26,794	5,6		
120	55	29	10,608	2,974		

Midyeler teşrih edilmiş, her 4 midyenin eti bir alt-numune olarak toplanmış ve sonraki analizler için ayrı bir cam behere yerleştirilmiştir. Her alt-numunenin ağırlığı kaydedilmiştir. Midye diseksiyonu şekil 21’de gösterilmiştir.



Şekil 21 Midye diseksiyonu

#### a. Baz muamelesi

Baz muamelesi için (Karami et al., 2017) protokolü küçük değişikliklerle kullanılmıştır. KOH (%10 w/v) çözeltisi, KOH peletlerinin distile su içinde çözülmesiyle hazırlanmıştır. Çözeltiyi hazırlamak için balon joje kullanılmıştır. 1000 ml'lik çözelti için 500 ml distile suya 100 g KOH eklenmiş ve kristalleri tamamen eriyene kadar karıştırılmıştır. Elde edilen solüsyonun sıcaklığı oda sıcaklığına ulaşana kadar bırakılmıştır. Solüsyonu balon jodedeki çizgiye ulaşana kadar distile su ilave edilmiştir.

Cam beherde bulunan her bir alt numuneye, 1:10 w/v (1:10 ağırlık/hacim) oranında %10 KOH solüsyonunu ilave edilmiştir (Örneğin 5 g doku için 50 ml solüsyon kullanılır). Cam beherler, kontaminasyonu önlemek için alüminyum folyo ile düzgün bir şekilde kapatılmış ve 40 °C'de 48 saat inkübe edilmiştir. Daha yüksek sindirim verimliliği elde etmek için, beherler 24 saat sonra çıkarılmış ve kısaca çalkalanmıştır. Baz muamelesi işlemi şekil 22 ve 23'te gösterilmiştir.



Şekil 22 Baz muamelesi işlemi

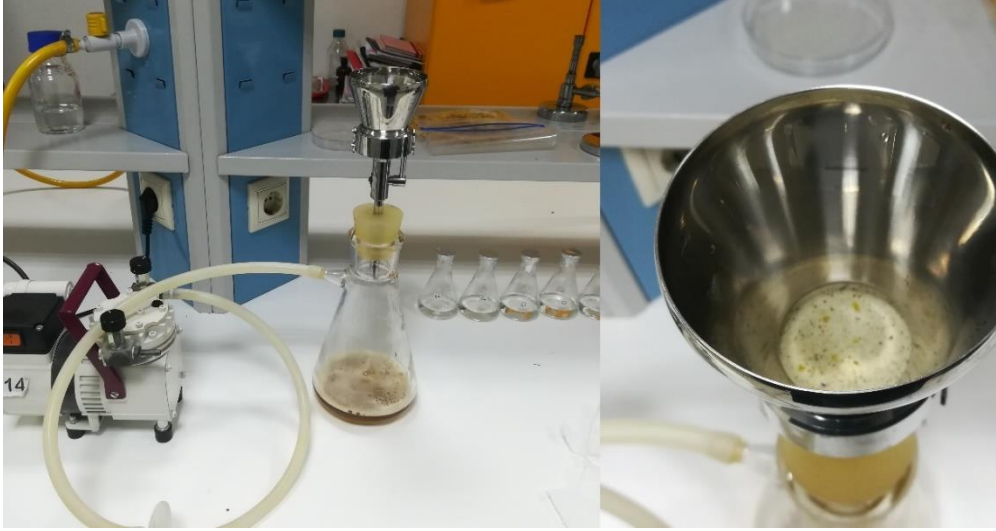


Şekil 23 Baz muamelesi işlemi

Elde edilen sindirim ürünü Whatman No. 541 filtreleri kullanarak filtrelenmiştir. Filtre membranları, sonraki analizde kullanılabileceği kadar cam petri kutularına yerleştirilmiştir (Şekil 24 ve 25).



Şekil 24 Elde edilen sindirim ürünü



Şekil 25 Filtreleme işlemi

### b. Yoğunluk ayırımı

Yoğunluk ayırımı için (Karami et al., 2017) protokolünü küçük değişikliklerle kullanılmıştır. Yoğunluk ayırımında 4,4 M NaI solüsyonu (1,5 g/mL) kullanılmıştır.

500 ml 4,4 M NaI solüsyonu hazırlamak için 200 ml distile suya 329,767 gram NaI ilave edilmiş ve kristaller tamamen eriyene kadar karıştırılmıştır. Hacmi 500 ml yapmak için kalan distile su ilave edilmiştir. NaI solüsyonu balon jodede hazırlanmıştır.

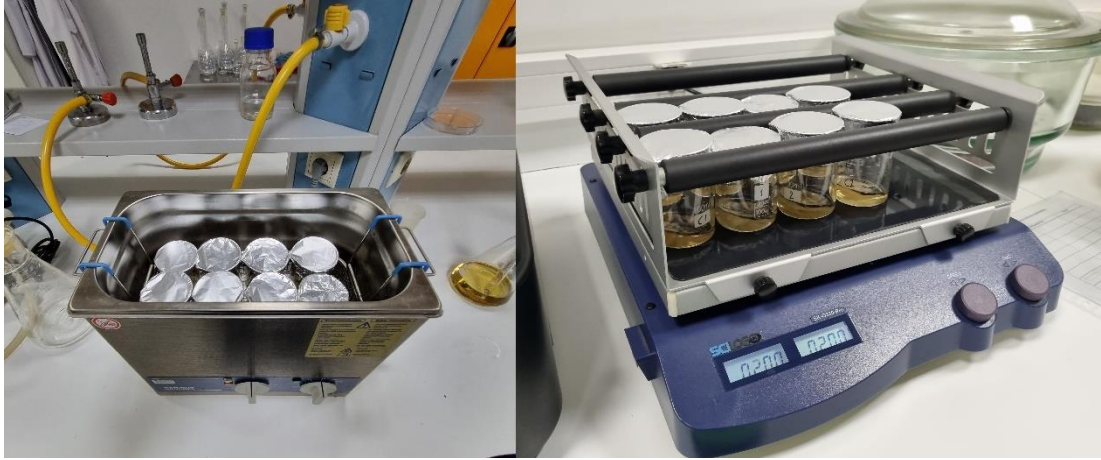
Baz muamelesi adımından elde edilen filtre membranları, 10-15 mL 4,4 M NaI solüsyonu ile doldurulmuş küçük beherlere aktarılmıştır (Şekil 26).



Şekil 26 Yoğunluk ayırımı işlemi



Beherler, 10 dakika boyunca 35 kHz'de sonikasyona tabi tutulmuş, ardından 5 dakika boyunca orbital çalkalayıcısı (200 rpm) üzerinde çalkalanmıştır (Şekil 27).



Şekil 27 Sonikasyon ve çalkalama işlemleri

Çözelti, 2 dakika boyunca 500 rpm'de santrifüj edilmiş ve süpernatant, bir toplama şişesinde toplanmıştır (Şekil 28).

Pelet 10-15 mL NaI solüsyonunda yeniden süspansiyon edilmiş, sonikasyona tabi tutulmuş, ajite edilmiş ve daha önce tarif edildiği gibi santrifüj edilmiştir. Bu işlem toplam üç kez tekrarlanmıştır. Süpernatantlar bir laboratuvar şişesinde toplanmış (Şekil 29), Whatman No. 541 filtreleri kullanarak filtrelenmiş ve bu filtreler, sonraki analizde kullanılana kadar cam petri kutularında kapalı tutulmuştur.

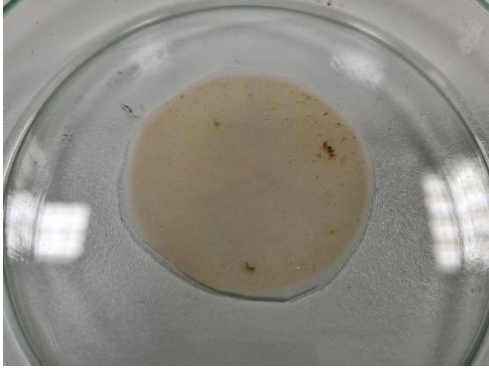
Yoğunluk ayırımı işleminden sonra elde edilen filtreleri aşağıdaki şekil 30-89'de gösterilmiştir.



Şekil 28 Santrifüjleme işlemi



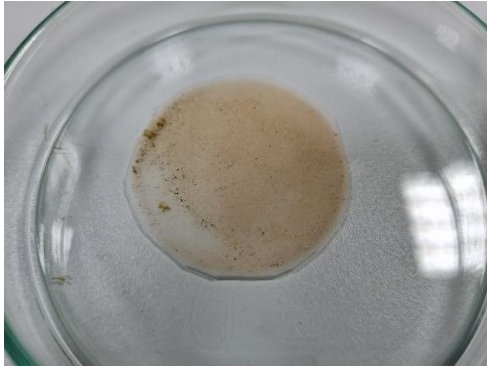
Şekil 29 Santrifüjlemeden sonra toplanan süpernatantlar



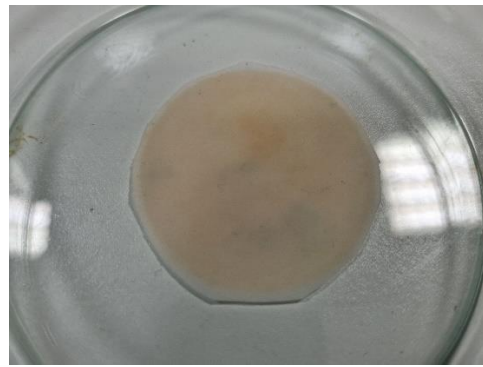
Şekil 30 Alt numune 1



Şekil 31 Kontrol 1



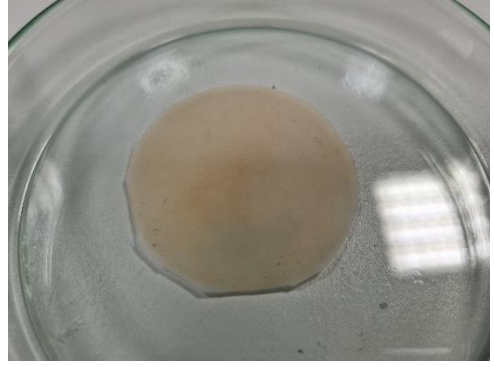
Şekil 32 Alt numune 2



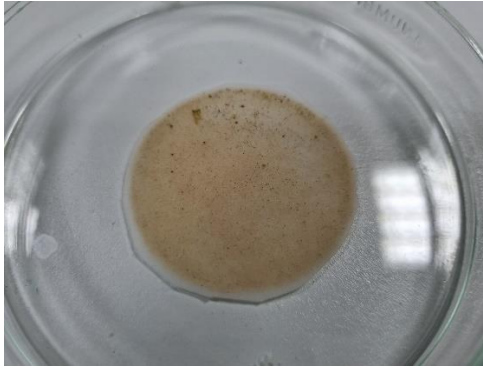
Şekil 33 Kontrol 2



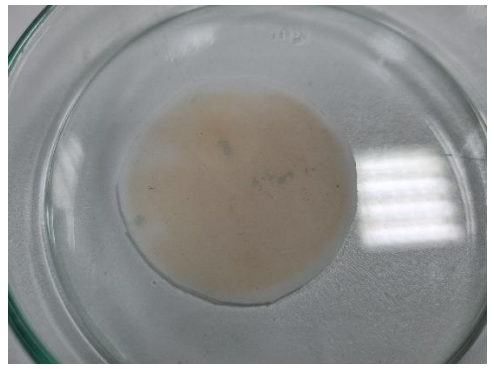
Şekil 34 Alt numune 3



Şekil 35 Kontrol 3



Şekil 36 Alt numune 4



Şekil 37 Kontrol 4



Şekil 38 Alt numune 5



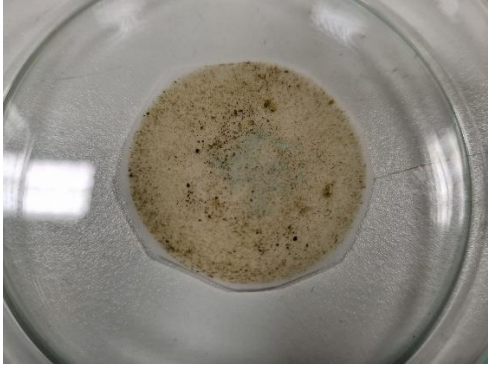
Şekil 39 Kontrol 5



Şekil 40 Alt numune 6



Şekil 41 Kontrol 6



Şekil 42 Alt numune 7



Şekil 43 Kontrol 7



Şekil 44 Alt numune 8



Şekil 45 Kontrol 8



Şekil 46 Alt numune 9



Şekil 47 Kontrol 9



Şekil 48 Alt numune 10



Şekil 49 Kontrol 10



Şekil 50 Alt numune 11



Şekil 51 Kontrol 11



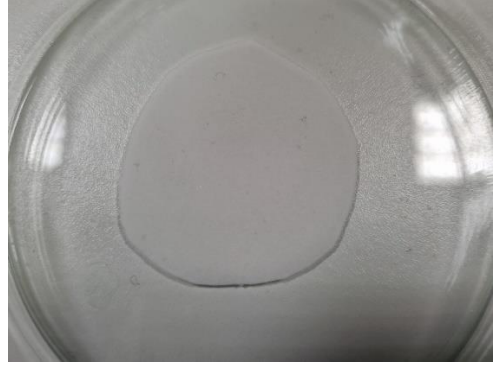
Şekil 52 Alt numune 12



Şekil 53 Kontrol 12



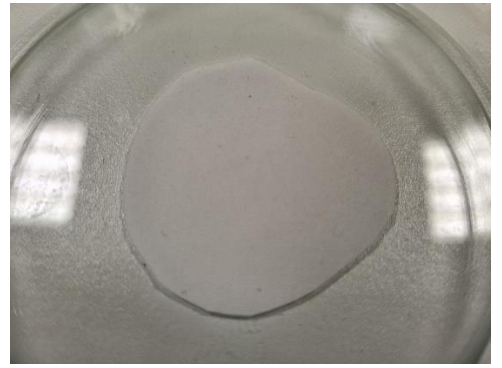
Şekil 54 Alt numune 13



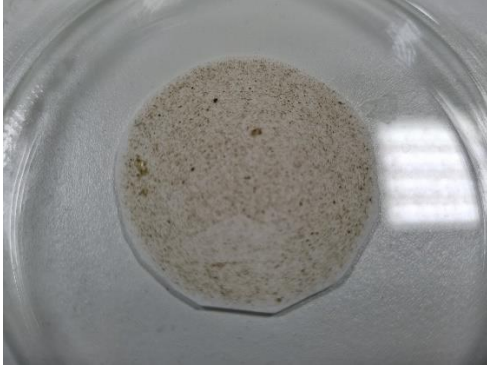
Şekil 55 Kontrol 13



Şekil 56 Alt numune 14



Şekil 57 Kontrol 14



Şekil 58 Alt numune 15



Şekil 59 Kontrol 15



Şekil 60 Alt numune 16



Şekil 61 Kontrol 16



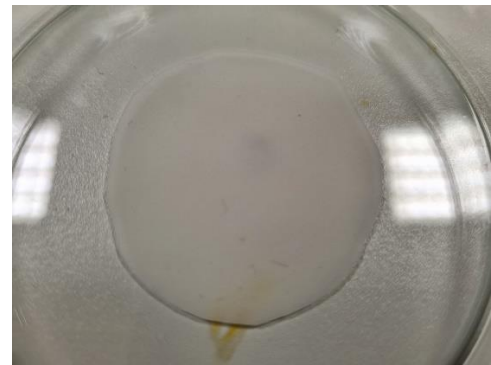
Şekil 62 Alt numune 17



Şekil 63 Kontrol 17



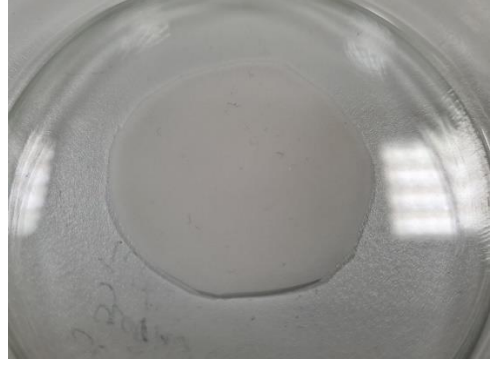
Şekil 64 Alt numune 18



Şekil 65 Kontrol 18



Şekil 66 Alt numune 19



Şekil 67 Kontrol 19



Şekil 68 Alt numune 20



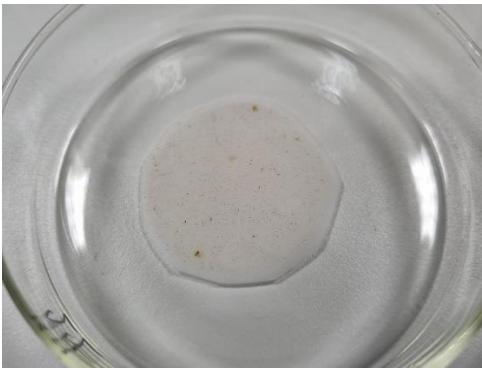
Şekil 69 Kontrol 20



Şekil 70 Alt numune 21



Şekil 71 Kontrol 21



Şekil 72 Alt numune 22



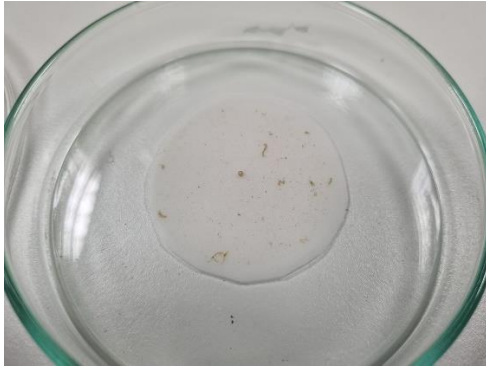
Şekil 73 Kontrol 22



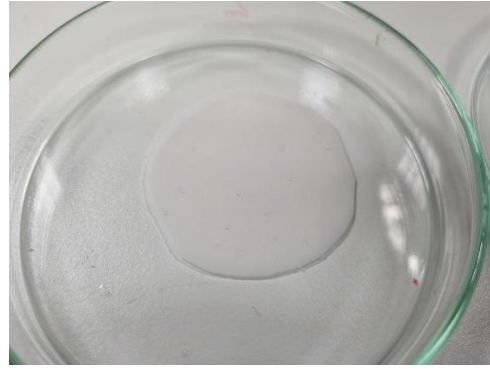
Şekil 74 Alt numune 23



Şekil 75 Kontrol 23



Şekil 76 Alt numune 24



Şekil 77 Kontrol 24



Şekil 78 Alt numune 25



Şekil 79 Kontrol 25



Şekil 80 Alt numune 26



Şekil 81 Kontrol 26





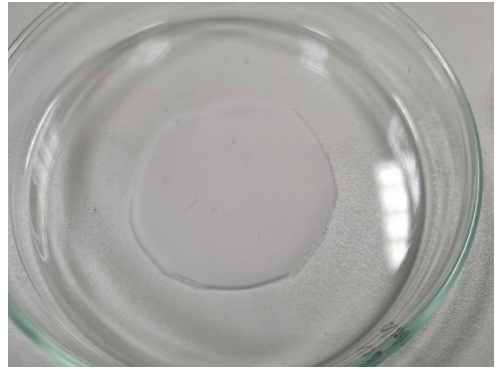
Şekil 82 Alt numune 27



Şekil 83 Kontrol 27



Şekil 84 Alt numune 28



Şekil 85 Kontrol 28



Şekil 86 Alt numune 29



Şekil 87 Kontrol 29



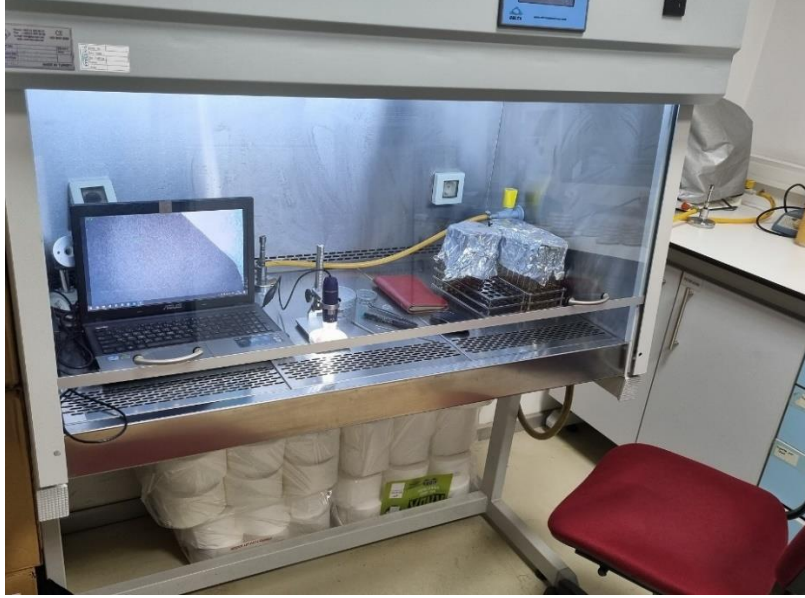
Şekil 88 Alt numune 30



Şekil 89 Kontrol 30

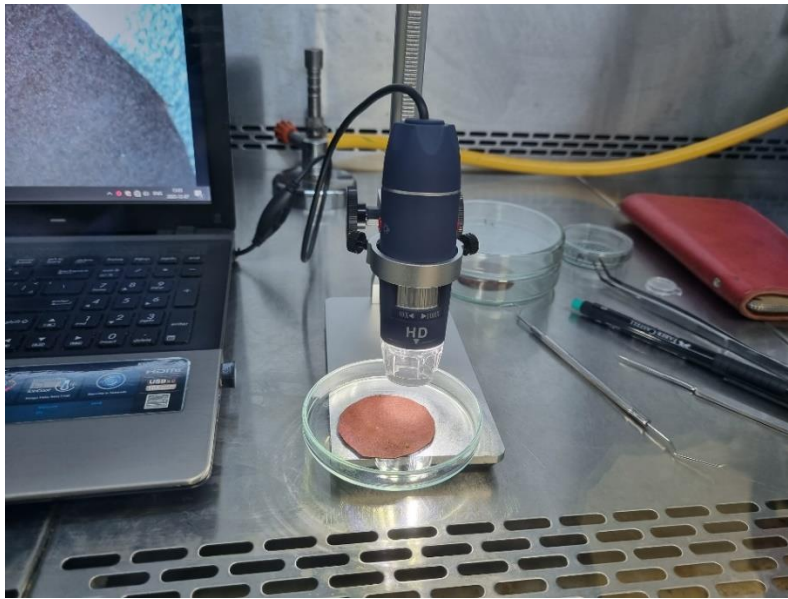
## 7. Mikroskopik İnceleme

Mikroskopik inceleme işlemleri İAÜ Gıda Teknolojisi Laboratuvarında yapılmıştır. Numune muamelesi adından elde edilen filtreler, bir dijital mikroskobu altında ve temiz hava koşullarında (laminer akış kabininde) incelenmiş ve her filtredeki mikroplastik parçacıkları sayılmıştır (Şekil 90 ve 91).



Şekil 90 Mikroskopik inceleme

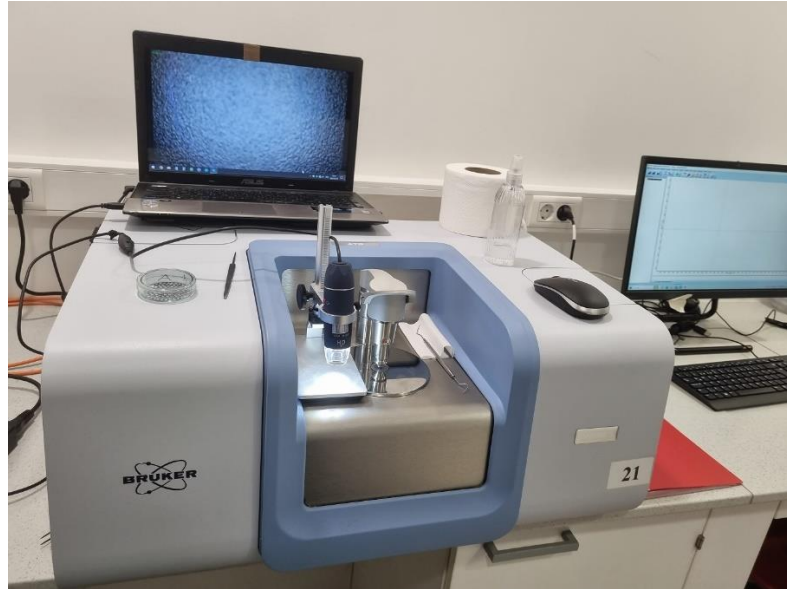
Mikroskop incelemesinde ve partiküllerin ölçmesinde S-EYE v1.6.0.11 yazılımı kullanılmıştır. Sayılan mikroplastikleri dış görünümüne göre, fibril, fragman, film ve pelet olmak üzere 4 ana gruba sınıflandırılmıştır.



Şekil 91 Mikroskopik inceleme

## 8. Polimer Tanımlama

Polimer tanımlamasında ATR-FTIR yöntemi kullanılmıştır. FTIR analizleri İAÜ Sağlık Bilimleri Laboratuvarında yapılmıştır. Filtre üzerindeki mikroplastiklerin polimer türü belirlemek için Bruker Invenio S ATR FTIR cihazı kullanılmıştır. Spektrumlar 4000 ile 400  $\text{cm}^{-1}$  arasında değişen dalga sayısında ve önceki çalışmalarda olduğu gibi 4  $\text{cm}^{-1}$ 'e ayarlanmış bir çözünürlükte kaydedilmiştir (Avio et al., 2017; Zhao et al., 2018; Sparks et al., 2021; Wakkaf et al., 2020). Her numune analizinden önce, numune tutucu ve ATR kristali etanol ile temizlenmiş ve her analizden sonra bir arka plan taraması yapılmıştır. FTIR ile analiz edilmeden önce, tüm partiküller 24 saat 40 derecede etüvde yerleştirilmiştir. Bu şekilde, analiz edilen parçacıkların tamamen kuru olduğundan ve nemin FTIR analizine müdahale etmeyeceğinden emin olunmuştur. Plastik parçacıkları ince bir cımbız kullanarak ve bir dijital mikroskobu yardımıyla FTIR üzerine yerleştirilmiş ve elmas kafaya karşı sıkıştırılmıştır. Her numune için en az 6 tarama yapılmıştır. Elde edilen FTIR spektrumları, cihaz üreticisinden sağlanan OPUS v8.5 yazılımı kullanarak tanımlanmıştır. Polimer türlerini doğrulamak için, elde edilen spektrumları cihaz üreticisinin kütüphanesinde saklanan verilerle karşılaştırılmıştır (Bruker Optics ATR-Polimer Kütüphanesi). Şekil 92’te Polimer tanımlama işlemi görünmektedir.

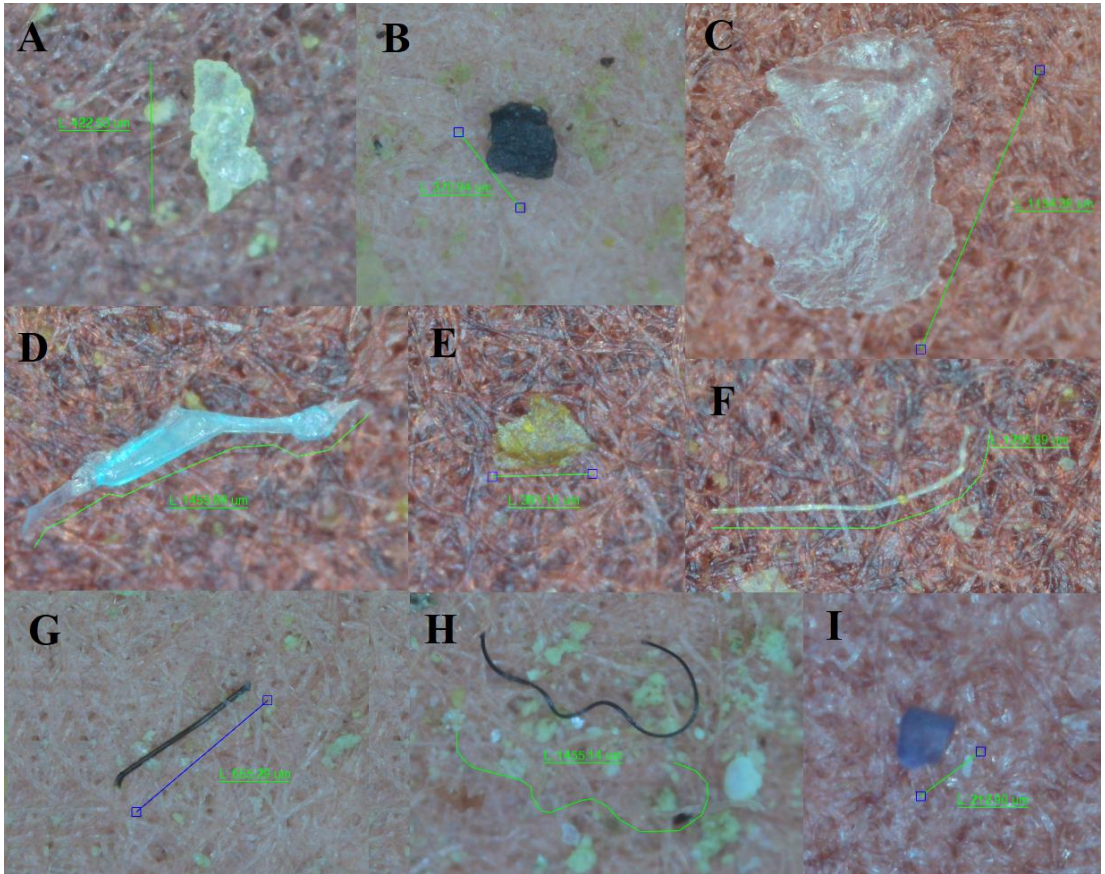


Şekil 92 Polimer tanımlama (ATR-FTIR)



## VI. BULGULAR

Bu çalışmada yapılan mikroskopik inceleme sonucunda 30 alt-numuneden toplam 520 parçacığın mikroplastik olduğundan şüphelenilmiştir. ATR FTIR ile incelenen 520 parçacıktan yalnızca 60'ının (%11,54) mikroplastik olduğu doğrulanmıştır. Dolayısıyla, incelenen 30 alt-numuneden 22 alt-numunede (%73,33) mikroplastik saptanmıştır. Alt-numune başına ortalama mikroplastik varlığı 2 parçacık olarak değerlendirilmiştir. Ayrıca midye başına ortalama mikroplastik varlığı 0,5 parçacık, gram başına ise 0,13 parçacık olarak hesaplanmıştır. Tespit edilen bazı mikroplastiklerin görüntüleri şekil 93'te görünmektedir.



Şekil 93 Tespit edilen bazı mikroplastiklerin görüntüleri (A: Fragman – PS / B: Fragman – Akrilonitril Butadiyen Stiren (ABS) / C: Film – Düşük Yoğunluklu Polietilen (LDPE) / D: Fragman – Yüksek Yoğunluklu Polietilen (HDPE) / E: Film – PA / F: Fibril – PET / G: Fibril – PA / H: Fibril – PET / I: Fragman – UPVC)

Mikroplastikler, polimer türü, şekil, renk ve boyutuna göre sınıflandırılmıştır. Elde edilen tüm mikroplastiklerin özellikleri ve alt-numune başına tespit edilen mikroplastik sayısı çizelgeler 13 ve 14’te gösterilmiştir.

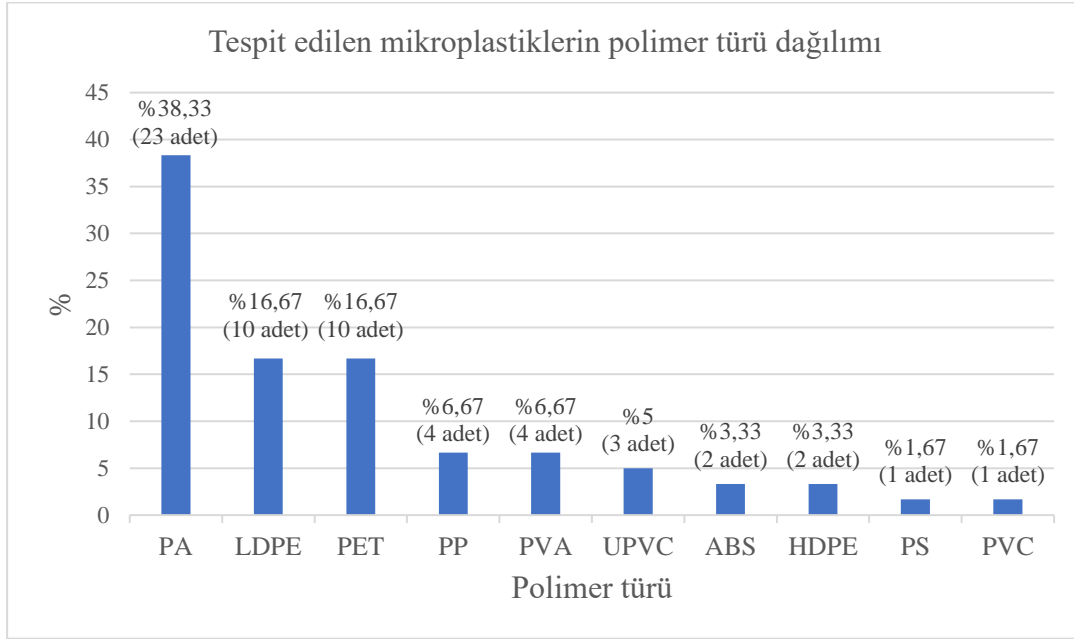
Çizelge 13 Elde edilen mikroplastiklerin özellikleri / Alt-numune 1-12

Alt-numune no	Parçacık şekil ve no	Polimer türü	Boyut (µm)	Renk	Toplam
1	Film 12	PA	2064	Şeffaf	4
	Film 13	PVA	624	Yeşil	
	Fragman 1	PP	282	Beyaz	
	Fragman 3	HD-PE	226	Yeşil	
3	Fibril 2	PA	3172	Siyah	1
4	Fragman 1	PS	423	Yeşil	1
5	Fibril 5	PET	2278	Şeffaf	2
	Film 6	PA	381	Yeşil	
6	Film 7	PVA	2475	Yeşil	4
	Film 8	LD-PE	1154	Beyaz	
	Film 10	PA	1691	Yeşil	
	Fragman 1	HD-PE	1456	Beyaz	
8	Fibril 1	PET	1257	Şeffaf	2
	Fibril 2	LD-PE	1408	Yeşil	
9	Fibril 1	PVA	594	Yeşil	1
11	Fibril 1	PVC	1459	Siyah	7
	Fibril 2	PET	1518	Siyah	
	Fibril 3	PP	1076	Siyah	
	Fibril 6	LD-PE	979	Siyah	
	Film 1	PA	2464	Yeşil	
	Film 2	PA	2443	Yeşil	
	Fragman 2	ABS	371	Siyah	
	Fibril 2	PET	1744	Siyah	
12	Fibril 3	LD-PE	1216	Siyah	6
	Film 1	PA	2507	Yeşil	
	Film 3	PA	2606	Yeşil	
	Film 4	PA	2051	Yeşil	
	Fragman 3	LD-PE	261	Siyah	

Çizelge 14 Elde edilen mikroplastiklerin özellikleri / Alt-numune 13-30

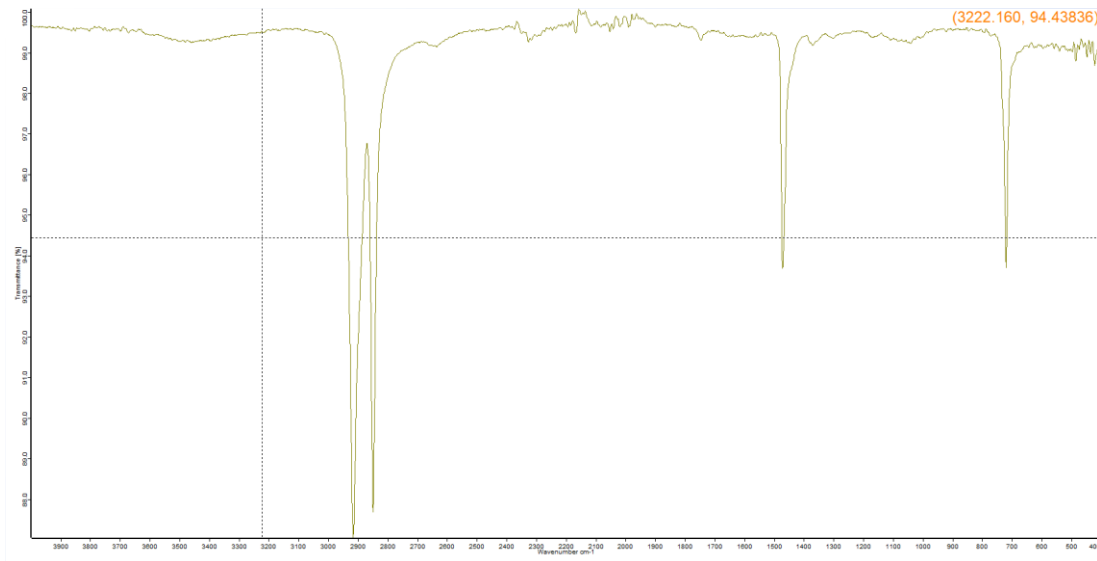
Alt-numune no	Parçacık şekil ve no	Polimer türü	Boyut (µm)	Renk	Toplam
13	Fibril 2	PA	808	Siyah	5
	Fibril 3	PET	2994	Siyah	
	Film 1	PA	2459	Yeşil	
	Film 2	PA	1971	Yeşil	
	Film 3	PA	2869	Yeşil	
14	Fibril 1	PA	655	Siyah	3
	Film 1	PA	3207	Yeşil	
	Film 2	PA	2165	Yeşil	
15	Fibril 2	PET	1455	Siyah	4
	Film 4	PA	1798	Yeşil	
	Film 6	PA	1529	Yeşil	
	Fragman 9	PA	193	Turuncu	
17	Film 2	LD-PE	956	Kahverengi	3
	Film 7	LD-PE	535	Yeşil	
	Film 8	PVA	2110	Yeşil	
18	Film 4	LD-PE	590	Yeşil	1
23	Fibril 2	PET	526	Şeffaf	2
	Fragman 6	PP	790	Yeşil	
24	Fibril 6	PET	2838	Siyah	3
	Fragman 3	LD-PE	202	Lacivert	
	Fragman 4	UPVC	228	Yeşil	
25	Fibril 7	PET	1292	Lacivert	3
	Fragman 2	UPVC	338	Yeşil	
	Fragman 3	ABS	719	Beyaz	
26	Fibril 2	LD-PE	943	Lacivert	3
	Fibril 3	PA	783	Lacivert	
	Film 12	PP	286	Yeşil	
27	Film 5	PA	674	Sarı	1
28	Fibril 5	PET	2092	Siyah	1
29	Film 1	PA	414	Yeşil	2
	Fragman 1	UPVC	213	Mavi	
30	Film 3	PA	1048	Yeşil	1

Tespit edilen mikroplastiklerin polimer türüne bakıldığında, ATR FTIR analizleri sonucunda toplam 10 polimer türü saptanmıştır. PA %38,33 ve 23 parçacık ile en yaygın bulunan polimer türü olmuş, onu LDPE (%16,67 – 10 parçacık), PET (%16,67 – 10 parçacık), PP (%6,67 – 4 parçacık) ve Polivinil Alkol (PVA) (%6,67 – 4 parçacık) izlemiştir. Mikroplastiklerin polimer türüne göre dağılımı şekil 94’te görülmektedir.



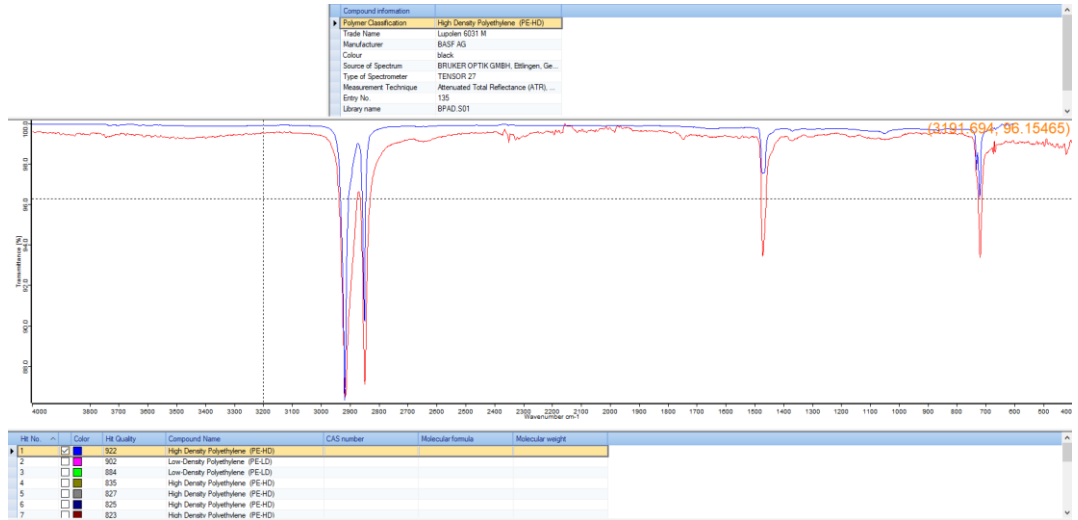
Şekil 94 Tespit edilen mikroplastiklerin polimer türüne göre dağılımı

Tespit edilen bazı mikroplastiklerin FTIR spektrumları ve analiz sonuçları şekil 95-98’de gösterilmiştir.

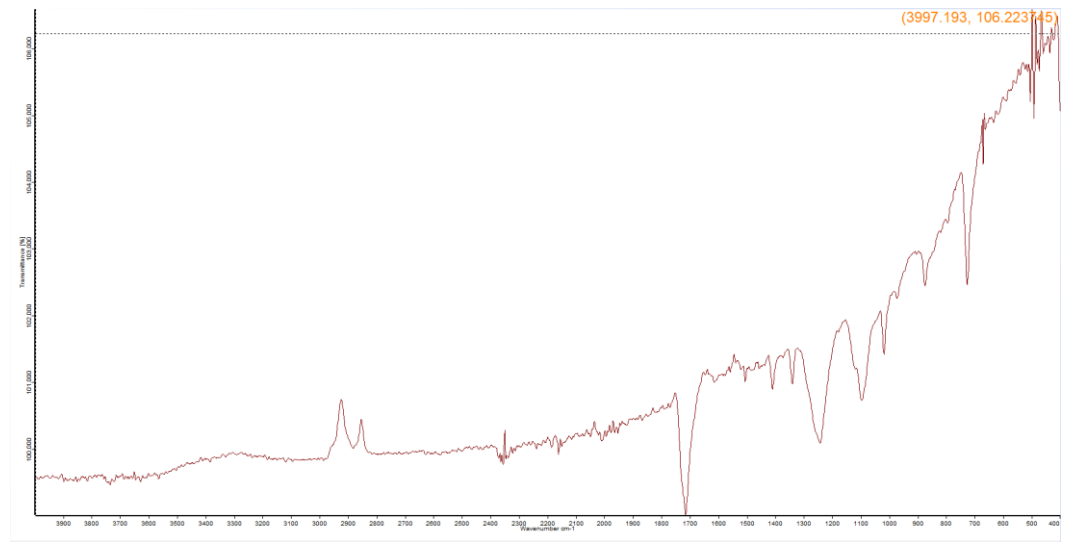


Şekil 95 Alt-numune 6 - Fragman 1 - FTIR spektrumu

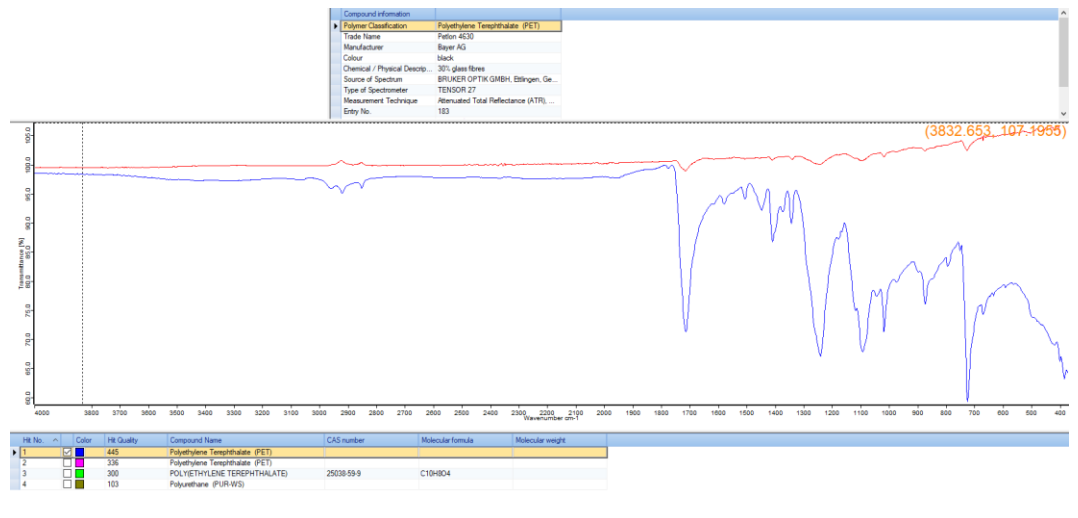




Şekil 96 Alt-numune 6 - Fragman 1 - FTIR analiz sonucu HDPE

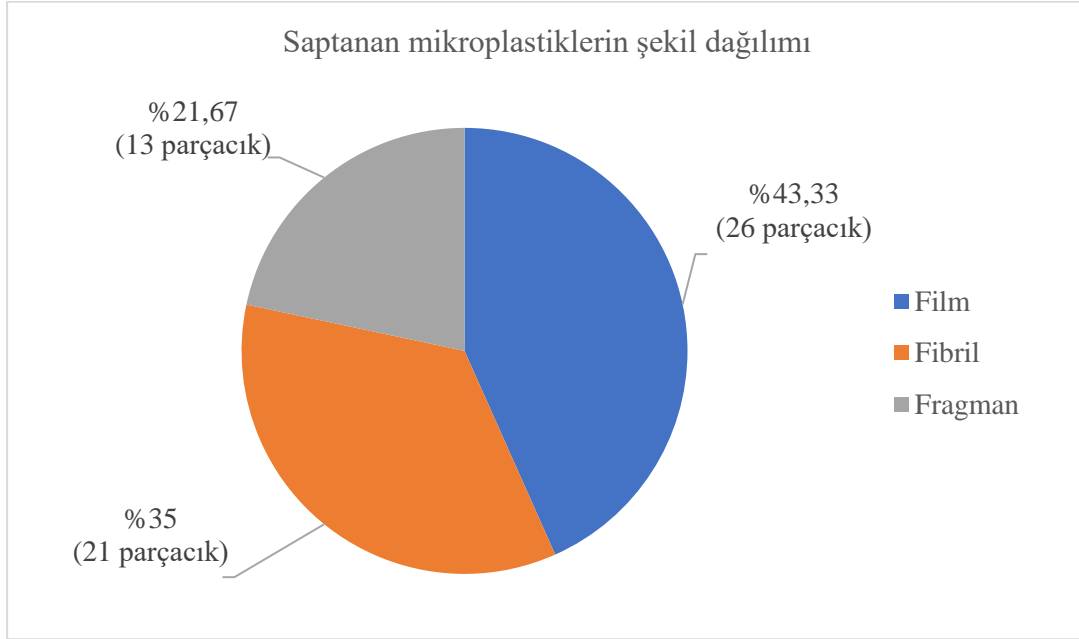


Şekil 97 Alt-numune 15 - Fibril 2 - FTIR spektrumu



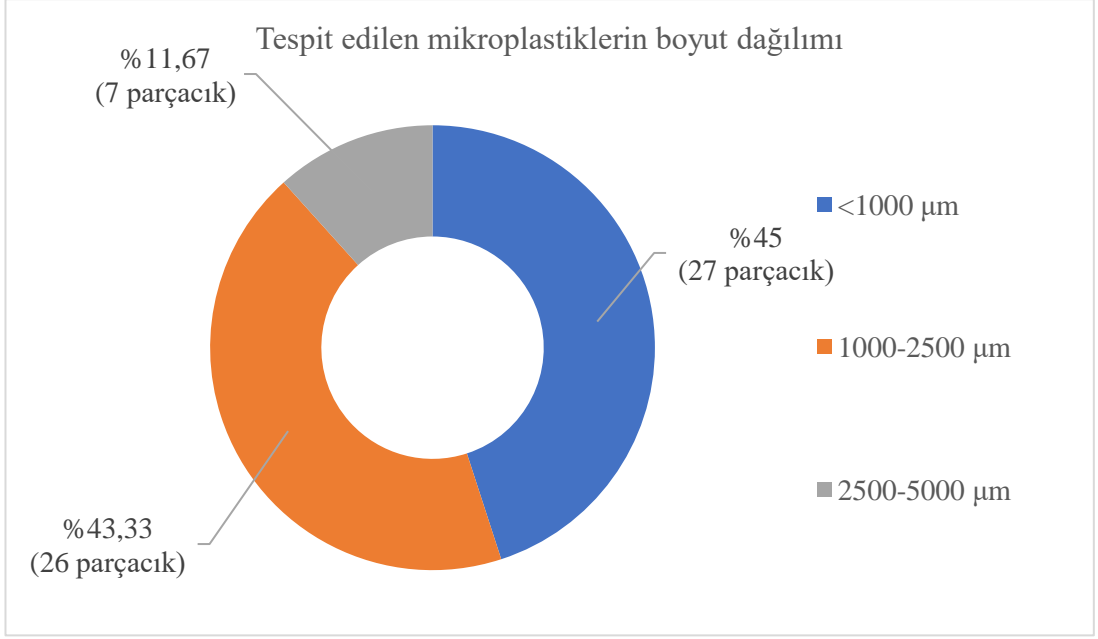
Şekil 98 Alt-numune 15 - Fibril 2 - FTIR analiz sonucu PET

Film, en yaygın saptanan mikroplastik şekliydi (%43,33 – 26 parçacık). Ondan sonra fibril (%35 – 21 parçacık) ve fragman (%21,67 – 13 parçacık) gelmiştir. Pelet şeklinde mikroplastik ise tespit edilmemiştir. Tespit edilen mikroplastiklerin rengi dikkate alındığında, parçacıkların çoğunluğu yeşildi (%48,33 – 29 parçacık), ondan sonra sırasıyla siyah (%25 – 15 parçacık), şeffaf (%6,67 – 4 parçacık), lacivert (%6,67 – 4 parçacık) ve beyaz (%6,67 – 4 parçacık) parçacıklar gelmiştir. Şekil 99’de saptanan mikroplastiklerin şekle göre dağılımı görünmektedir.



Şekil 99 Saptanan mikroplastiklerin şekle göre dağılımı

Parçacık boyutları incelendiğinde, 1000 µm ’den küçük parçacıklar, toplam parçacıklardan 27 parçacık ve %45 ile en yaygın olmuştur. Onu ikinci sırada 1000-2500 µm boyut aralığındaki parçacıklar (26 parçacık ve %43,33) ve üçüncü sırada 2500-5000 µm boyut aralığındaki parçacıklar (7 parçacık ve %11,67) takip etmiştir. Şekil 100’de tespit edilen mikroplastiklerin boyuta göre dağılımı gösterilmiştir.



Şekil 100 Tespit edilen mikroplastiklerin boyuta göre dağılımı



## VII. TARTIŞMA VE SONUÇ

Geçmişte su ortamına giren büyük miktarda plastik malzeme, binlerce yıl sonrasına kadar uzanan bir çevresel felaketi başlatmış olup, bugün, karada çok büyük miktarlarda atılan plastik atığı hala dünya okyanuslarına karışmaktadır. Plastik malzemeler oldukça dayanıklıdır ve genellikle suda çözünmez. Bazı plastikler güneş ışığıyla bozulup, kırılğan hale gelir ve kırılır, diğerleri ise dalgalarla etrafa savrulur ve sonunda mikroplastik adı verilen sayısız küçük renkli parçalara ayrılmaktadır. Bu küçük plastik parçalarından bazıları yüzey sularında yüzerken, diğerleri deniz tabanına batmakta veya akıntılarla taşınmaktadır. Aynı zamanda, küçük küreler şeklindeki mikroplastikler, kozmetik ve yüz ovma gibi kişisel bakım ürünlerinde kullanılmak üzere özel olarak üretilmektedir. Bu mikroskobik ve neredeyse saptanamayan mikroplastikler, kanalizasyondan aşağı akarak, zaten orada bulunan trilyonlarca benzer parçacıkların arasına katıldıkları okyanuslara dökülmektedir. Yine de bu küçük parçacıkların renkli görünümleri, küçük boyutları ve uyarılmış hareketleri, onları hevesle tüketen deniz canlıları tarafından kolayca yiyecek zannedilmeleri anlamına gelmektedir. Dünya nüfusunun çoğu için bol miktarda besin kaynağı sağlayan okyanusların su yaşamında artık mikroplastikler tespit edilmektedir.

Son yıllarda midye ve diğer çift kabuklularda mikroplastik kirliliği, dünyanın her yerinden çok sayıda bilimsel çalışmanın konusu olmuştur. 2014 yılında Belçika'da ticari amaçla yetiştirilen iki tür çift kabukluda mikroplastiklerin varlığını incelenmiştir. Bu çalışmada incelenen çift kabuklu türlerinden biri *Mytilus edulis* midyesidir. Bu çalışmada ayrıca 3 midyenin eti bir alt-numune oluşturmak üzere birleştirilmiştir. Midye numunelerin sindirimi %69 nitrik asit kullanarak gerçekleştirilmiştir. Elde edilen mikroplastik parçacıkların polimer türü mikro-Raman spektrometre yöntemi kullanılarak incelenmiştir. Depürasyonu olmamış *M. edulis* midyesinde  $0,36 \pm 0,07$  parçacık/gram saptanırken, 3 gün depürasyon yapılmış aynı midye numunelerinde ise  $0,24 \pm 0,07$  parçacık/gram saptanmıştır (Van Cauwenberghe and Janssen, 2014).

Belçika ve Fransa kıyılarında yapılan başka bir çalışmada, mavi midye (*Mytilus edulis*) numunelerinde mikroplastik alımı incelenmiştir. Her üç midye dokusu birleştirilerek bir alt-numune olarak incelenen bu çalışmada, midye dokusu gram başına ortalama  $0,2 \pm 0,3$  parçacık içermiştir. Midye numunelerinin organik maddesi sindirimi için %69 nitrik asit kullanılmış ve parçacıkların polimer türü mikro-Raman spektrometre yöntemi kullanılarak belirlenmiştir. Ekstrakte edilen mikroplastikler, LDPE, HDPE ve PS polimer türlerinden oluşuyordu. (Van Cauwenberghe et al., 2015).

Asya pazarlarından toplanan dokuz çift kabuklu türünde mikroplastik varlığını araştırılmıştır. Numune sindirimi için %30 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> kullanılmış ve yoğunluk ayrımı NaCl solüsyonu kullanılarak yapılmıştır. Bu çalışmada elde edilen mikroplastik parçacıkları mikroskop ve  $\mu$ -FTIR yöntemleri kullanılarak saptanmıştır. Ancak mikroskopik incelemesinden elde edilen yalnızca bazı parçacıkları  $\mu$ -FTIR ile incelenmiştir. Ayrıca bu çalışmada araştırmacılar, her 1-5 çift kabuklu hayvanın dokusu bir alt-numune oluşturacak şekilde birleştirmişlerdir. Çalışmanın sonucunda yoğun mikroplastik kontaminasyonu olduğu ispatlanmıştır. İncelenen çift kabuklular için toplam mikroplastik sayısı 2,1 ila 10,5 parçacık / gram ve 4,3 ila 57,2 parçacık / tane arasında değişmektedir. 250  $\mu$ m 'den küçük ve siyah renkli parçacıklar, sırasıyla en çok rastlanan parçacık boyutu ve rengi olarak değerlendirilmiştir. Fibriller (%67) en yaygın parçacık şekliydi ve PE en çok saptanan polimer türü olmuştur (Li et al., 2015).

Çin kıyı şeridindeki 22 bölgeden toplanan midyelerde (*Mytilus edulis*) mikroplastik kirliliği araştırılmıştır. Toplanan midyeleri, her biri 2-5 midyeden oluşan alt-numuneler olarak analiz edilmiştir. Araştırmacılar midye dokusu sindirimi için %30 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> kullanmışlardır. Plastik parçacıkları diğer yüksek yoğunluklu malzemelerinden ayırmak için NaCl çözeltisi kullanılmıştır. Midye numunelerinde ortalama 2,2 parça/gram (ıslak ağırlık) ve 4 parça/adet mikroplastik bulunmuştur. Yabani midye numuneleri gram başına ortalama 2,7 parçacık, adet başına ise ortalama 4,6 parçacık içermiştir. Diğer yandan, midye çiftçiliklerinden toplanan midye numuneleri daha az mikroplastik içeriyordu. Kültürlü midye numunelerinde gram başına 1,6 parçacık, adet başına ise 3,3 parçacık saptanmıştır. Midye dokusunda fibriller, parçacıklar, küreler ve pullar dahil olmak üzere birçok mikroplastik şekli bulunmuştur. En yaygın mikroplastik şekli fibrillerdi (%65) ve bunu parçacıklar izlemiştir. Çalışmada görsel saptanma işleminde tanımlanmış toplam 1519 parçacıktan

sadece 129 (%8,49) plastik benzeri parçacık seçilmiş ve  $\mu$ -FTIR kullanarak doğrulanmıştır. CP, PET ve PES dahil olmak üzere çeşitli polimer türleri tanımlanmıştır (Li et al., 2016).

Yunanistan'da yapılan bir çalışmada, midyede (*Mytilus galloprovincialis*) mikroplastik varlığı araştırılmıştır. Bu çalışmada numune sindirimi için %30 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, polimer tanımlaması için ise FTIR yöntemi kullanılmıştır. Elde edilen mikroplastiklerin sadece %20'si FTIR ile analiz edilmiştir. Mikroplastik görülme sıklığı midyede %46,3 olarak kaydedilmiştir. Mikroplastik bolluğu midyelerde ortalama 0,85 parça/adet olarak tespit edilmiştir. Tespit edilen mikroplastiklerin en yaygın şekli fragmanlardı (%77,8). PE tespit edilen en yaygın polimer türü, mavi ise - tespit edilen en yaygın renk olarak göstermiştir (%54,4). 100-500  $\mu$ m boyut aralığındaki mikroplastikler, %52,60 oranı ile en çok rastlanan boyut aralığı olmuştur (Digka et al., 2018).

2018 yılında ABD'de mavi midye (*Mytilus edulis*) numunelerinde mikroplastik varlığı hakkında bir çalışma yapılmıştır. Bu çalışmada organik madde sindirimi için %30 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> kullanılmış ve yoğunluk ayırımı NaI kullanarak yapılmıştır. Stereomikroskop altında incelemelerden sonra, tüm numunelerde bulunan mikroplastik parçacıkların polimer türü tanımlaması için hem Raman spektroskopisi hem de ATR FTIR yöntemleri kullanılmıştır. Midyelerde toplam 23 mikroplastik parçacığı saptanmıştır. 16 psödofekal numunede üç mikroplastik parçacığı, 37 fekal numunede ise 7 mikroplastik parçacığı tespit edilmiştir. Doku numuneleri için mikroplastik sıklığı ortalama 0,6 parçacık/gram ve 0,4 parçacık/adet olarak tespit edilmiştir. *M. edulis* tarafından yakalanan parçacıkların ortalama boyutu  $295,5 \pm 245,8$   $\mu$ m idi ve boyut olarak 47,9 ila 1030,1  $\mu$ m arasında değişiyordu (Zhao et al., 2018).

Başka bir çalışmada, Kuzey Tunus'ta bulunan Bizerte lagünündeki midye (*Mytilus galloprovincialis*) örneklerinde mikroplastik varlığını değerlendirilmiştir. Organik madde sindirimi %10 KOH solüsyonu kullanarak yapılmıştır. Ayrıca, mikroplastik parçacıkları, daha ağır ve plastik olmayan parçacıklardan ayırmak için NaI solüsyonu kullanılmıştır. ATR FTIR yöntemi mikroplastik parçacıkların polimer türü doğrulamak için kullanılmıştır. Bu çalışmada incelenen 30 midye örneğinden 29 (%97) mikroplastik içerdiği ispatlanmıştır. Midyelerden 232 mikroplastik parçacığı toplanmıştır. Ortalama mikroplastik konsantrasyonu  $2,1 \pm 1,0$  parçacık/gram ve  $7,7 \pm 3,8$  parçacık/adet olarak tespit edilmiştir. Midye örneklerinde fibrillerin hâkim olduğu,

ardından fragmanlar, filmler ve peletlerin geldiği bulunmuştur. Midyelerde en çok rastlanan polimer türü PE olup, en çok rastlanan renk ise şeffaf renkli parçacıkları olmuştur (%61,64) (Wakkaf et al., 2020).

2021 yılında Güney Afrika'da yapılan bir çalışmada, Cape Town kentinde süpermarketlerde ve toptancılarda satılan midyelerde mikroplastik varlığı araştırılmıştır. Midye dokusu %10 KOH solüsyonu kullanarak sindirilmiş ve stereomikroskop altında incelenmiştir. Boyutu >500 µm olan parçacıkların polimer tanımlaması, ATR FTIR spektrometresi kullanılarak yapılmıştır. İşlenen midyelerin %87'sinde toplam 804 mikroplastik kaydedilmiştir. Görsel olarak tanımlanmış 805 parçacıktan yalnızca 31'inin polimer türü (%3,86) ATR FTIR kullanarak doğrulanmıştır. Tanımlanan mikroplastik şekilleri fragmanlar (%70) ve fibrillerdi (%30). Ortalama  $0,04 \pm 0,003$  parçacık/gram ve  $3,83 \pm 0,2$  parçacık/adet bulunmuştur. En yaygın polimer türü PET (%52), en yaygın parçacık boyutu ise 2000 µm 'den küçük parçacıklar olarak belirlenmiştir (Sparks et al., 2021).

Dünyanın pek çok yerinde olduğu gibi, Türkiye'de de mikroplastiklerin yaygınlığı birçok çalışmada araştırılmıştır. Bu çalışmalardan biri Gedik ve Eryaşar tarafından 2020 yılında yapılan ve Türkiye kıyılarında toplanan midyelerin mikroplastik kontaminasyonu araştıran çalışmasıdır. Bu çalışmada, midye numuneleri Karadeniz, Marmara Denizi ve Ege Denizi'nin kıyılarında bulunan 23 farklı noktadan toplanmıştır. Midye numunelerinde organik maddesi, %30 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> kullanarak sindirilmiş ve ortaya çıkan mikroplastikleri stereomikroskobu ile incelenmiştir. Mikroplastiklerin polimer türü belirlemek için, FTIR tekniği kullanılmıştır. Örneklerin %64'ünde mikroplastik tespit edilmiştir. Mikroplastiklerin ortalama yaygınlığı 0,23 parçacık/gram ve 0,69 parçacık/adet olarak değerlendirilmiştir. En yaygın mikroplastik şekli fragmanlar (%67,6), bunu lifler (%28,4) ve filmler (%4,05) izlemiştir. En yaygın boyut aralığı 1 mm'den küçük parçacıklarıdır (%26,58). En çok rastlanan polimer türü PET (%32,9) tespit edilmiştir. Türkiye'de midye tüketicileri için yıllık ortalama maruziyet miktarı 1918 mikroplastik/yıl olarak hesaplanmıştır (Gedik ve Eryaşar, 2020).

Türkiye'de yapılan diğer bir çalışmada, Marmara denizi kıyı şeridi boyunca 20 bölgeden Akdeniz midyesinin (*Mytilus galloprovincialis*) popülasyonlarında mikroplastik varlığı ve özellikleri araştırılmıştır. Bu çalışmada polimer tanımlama işleminde FTIR yöntemi kullanılmış ve numune sindirimi %30 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ile yapılmıştır.



412 midyede toplam 812 mikroplastik tespit edilmiştir. Ortalama mikroplastik yaygınlığı 1,12 parçacık/gram ve 2,06 parçacık/adet olarak saptanmıştır. Tespit edilen en yaygın mikroplastik şekli fibriller (%81,16) olmuştur. Parçacıkların çoğunluğu 1 mm'den küçük boyuta sahipti. Plastik polimer türleri FTIR ile doğrulanmış ve 14 farklı polimer türü tanımlanmıştır. PET en yaygın polimer türü olarak belirlenmiştir (%66,38) (Gedik et al., 2022).

Yapılan bu tez çalışmasında, İstanbul'un Sarıyer ilçesinden toplanan midye örneklerinde mikroplastik yaygınlığı araştırılmıştır. Bu çalışmada elde edilen sonuçların, İstanbul ilinde satılan ve tüketilen midyelerdeki mikroplastik kontaminasyonunun mevcut durumunun daha iyi anlaşılmasına yardımcı olacağını umulmaktadır. Bu da plastik kontaminasyon düzeylerini azaltmak için ve gelecekte bu sorunu düzgün bir şekilde ele almak için uygun müdahaleye yardımcı olacaktır. Türkiye'de daha önce çiğ midye örneklerinde mikroplastik kontaminasyon sorununu ele alan sadece birkaç çalışma yapılmıştır (Gedik ve Eryaşar, 2020; Yozukmaz, 2021; Gedik et al., 2022). Bu çalışma, midye ve diğer kabuklu hayvanlarında mikroplastik kontaminasyonu ele alan ilk çalışmalardan biridir. Dolayısıyla, Türkiye'de midye ve diğer kabuklu hayvanlarında ve genellikle deniz hayvanlarındaki mikroplastik kontaminasyon seviyeleri hakkında daha net bir görüş elde edebilmek için bu alanda daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır.

Mevcut çalışma süresince, İstanbul ili Sarıyer ilçesindeki bir midye satış limanından (Rümelî Kavağı balıkçılar limanı) iki farklı zamanda toplam 120 adet midye toplanmıştır (her toplamada 60 adet). Laboratuvar incelemesinden önce midyeler, her biri 4 midyeden oluşan alt-numuneler oluşturmak üzere birleştirilmiş ve sonuçta toplam 30 alt-numune elde edilmiştir. Bu daha önce midyelerin bir araya toplandığı ve alt-numuneler olarak analiz edildiği diğer çalışmalarda da yapılmıştır (Van Cauwenberghe and Jenassen, 2014; Van Cauwenberghe et al., 2015; Li et al., 2015, 2016). Diseksiyon sonrası midye eti %10 KOH sindirim protokolü kullanarak sindirilmiştir (Karami et al., 2017). Sindirim işleminde kullanılması en önerilen seçenek olmasının yanı sıra (Dehaut et al., 2016; Kühn et al., 2017; Lusher et al., 2017b; Hermsen et al., 2018), KOH birçok diğer çalışmada da numune sindirimi için kullanılmıştır (Wakkaf et al., 2020; Sparks et al., 2021).

Baz muamelesi işleminden sonra elde edilen sindirim ürünü filtrelenmiştir. Plastik parçacıkları, numunedeki diğer yüksek yoğunluklu kirletici maddelerinden

ayırarak için, NaI çözeltisi kullanarak yoğunluk ayırımına tabi tutulmuştur. NaI solüsyonu diğer çalışmalarda da yoğunluk ayırımı için kullanılmıştır (Zhao et al., 2018; Wakkaf et al., 2020). Yoğunluk ayırımından sonra, filtre kağıtları bir dijital mikroskobu kullanarak görsel olarak incelenmiştir. Görsel inceleme sırasında, alt-numunelerin 30 filtresinin tamamından toplam 520 parçacık tespit edilmiştir. Daha sonra polimer kimliklerini doğrulamak ve plastik yapıda olduklarından emin olmak için tüm parçacıklar ATR FTIR ile incelenmiştir. Parçacıklar polimer türü, şekil, renk ve boyutuna göre sınıflandırılmıştır. ATR FTIR analizi, 520 parçacığın yalnızca 60'ının (%11,54) gerçekten plastik olduğunu doğrulamıştır. Bu 60 mikroplastik, test edilen 30 alt-numunenin 22'sinde (%73,33) tespit edilmiştir. Bu nedenle, bu sonuçlara dayanarak, alt-numune başına mikroplastik varlığı 2 parçacık, adet midye başına 0,5 parçacık ve gram midye dokusu başına 0,13 parçacık olarak hesaplanmıştır. ATR FTIR analizi sırasında toplam 10 polimer türü tespit edilmiştir: PA (%38,33 – 23 parçacık), LDPE (%16,67 – 10 parçacık), PET (%16,67 – 10 parçacık), PP (%6,67 – 4 parçacık), PVA (%6,67 – 4 parçacık), UPVC (%5 – 3 parçacık), ABS (%3,33 – 2 parçacık), HDPE (%3,33 – 2 parçacık), PS (%1,67 – 1 parçacık) ve PVC (%1,67 – 1 parçacık). Mikroplastikler şekillerine göre sınıflandırıldığında, filmler (%43,33 – 26 parçacık), fibriller (%35 – 21 parçacık) ve fragmanlar (%21,67 – 13 parçacık) saptanmıştır. Pelet şeklinde hiçbir parçacık tespit edilmemiştir. Tespit edilen parçacıkların renkleri incelendiğinde yeşilin (%48,33 – 29 parçacık) baskın renk olduğu, ardından siyah (%25 – 15 parçacık), şeffaf (%6,67 – 4 parçacık), lacivert (%6,67 – 4 parçacık) ve beyaz (%6,67 – 4 parçacık) geldiği tespit edilmiştir. Ortaya çıkan parçacıklar boyutlarına göre sınıflandırıldığında, 1000 µm'den küçük parçacıkların baskın boyut grubu olduğu (%45 - 27 parçacık), bunu 1000-2500 µm boyut aralığındaki parçacıkları (%43,33 – 26 parçacık) yakından takip ettiği görülmüştür.

Bu çalışmada elde edilen gram başına mikroplastik kontaminasyon değeri 0,13 parçacık/gram olarak hesaplanmıştır. Diğer çalışmalardan bildirilen midyelerdeki mikroplastik gram başına kontaminasyon değerleri ile karşılaştırıldığında, bu değer (Van Cauwenberghe et al., 2015; Gedik ve Eryaşar, 2020) çalışmalarında bildirilen değerlere benzer olduğunu bulunmuştur. Yine de sonuçlarımız, (Li et al., 2015, 2016; Digka et al., 2018; Zhao et al., 2018; Wakkaf et al., 2020; Gedik et al., 2022) gibi diğer çalışmalara kıyasla daha düşük kontaminasyon seviyesi göstermektedir.

Çin sahili yüksek mikroplastik kontaminasyonu göstermekte (Qiu et al., 2015), bu da (Li et al., 2016) çalışması ve çalışmamız arasındaki mikroplastik alımındaki farklılıkların nedeni olabilmektedir.

Bu tez çalışmasında sonuçlar bütün midye dokularının ağırlığına göre rapor edilirken, (Digka et al., 2018) çalışmasında sonuçlar, midye dokuları arasında daha yüksek mikroplastik sayıları içeren solungaç ve sindirim bezlerinin ağırlığına göre hesaplanmıştır. Midye sindirim bezi ve solungaçlarının (gıda alımı ve sindiriminde kullanılan dokular) kullanılması, gram doku başına daha fazla sayıda mikroplastik ile sonuçlanmasına yol açabilmektedir. Bu, (Digka et al., 2018) çalışması ile sonuçlarımız arasında gözlenen farklılıkların olası bir nedenidir. Bununla birlikte, bu çalışma havuzlanmış alt-numuneler kullanarak, test edilen tüm bireylerde ortalama değerleri bildirirken, (Digka et al., 2018) sadece mikroplastik içeren bireyleri dikkate alarak ağırlık bazında mikroplastik sayısını hesaplamışlardır. Buna ek olarak, (Li et al., 2016; Digka et al., 2018) çalışmalarında birden fazla örnekleme noktasından yabani ve kültür midyeleri örneklenirken, bu çalışmada yalnızca bir örnekleme konumundan toplanan yabani midyelerin sonuçları rapor edilmiştir. Örnekleme konumlarındaki farklılık ve farklı örnek türlerinin kullanılması da çalışmalar arasında sonuçlarda çeşitliliğe yol açabilmektedir.

(Wakkaf et al., 2020) çalışmanın sonuçları, inceledikleri midyelerin neredeyse tamamının (%96,97) dokularında mikroplastikler olduğunu göstermektedir. Gram başına mikroplastik kirlilik seviyeleri mevcut çalışmanın sonuçlarından birkaç kat daha yüksek bulunmuştur. Bu sonuçlar arasındaki farklılığı, Bizerte lagününün mikroplastiklerle yüksek düzeyde kirlenmiş olduğunu belirtmektedir. Lagün suları çeşitli potansiyel plastik kirlilik kaynaklarına maruz kalmaktadır. Lagün, özellikle önemli kıyı gelişiminin baskısı altındadır. Bu gelişim, ağırlıklı olarak yoğun kıyı kentsel alanları, iyi gelişmiş endüstriyel ve tarımsal sınır bölgeleri ve lagün sularını mikroplastiklerle potansiyel olarak zenginleştiren birçok balıkçı teknesi ve liman tarafından temsil edilmektedir. Lagün kıyılarında ayrıca farklı türde plastik atıklar (plastik poşetler, balık ağı kalıntıları... vs.) bol miktarda bulunmaktadır. Buna ek olarak, lagün suları, yağışlı mevsimlerde su sistemini tatlı su ile besleyen akarsular yoluyla önemli miktarlarda kara kökenli makro- ve mikroplastikler alabilmektedir (Wakkaf et al., 2020). Bütün bu gerçekler, (Wakkaf et al., 2020) çalışmasında elde edilen yüksek düzeyde mikroplastik kontaminasyonunu açıklayabilmektedir.

Mevcut çalışmanın sonuçları diğer çalışmalara kıyasla neden düşük kontaminasyon seviyeleri gösterdiğinin bir başka olası açıklaması, bu çalışma için minimum tespit seviyesinin 200 µm olarak belirlenmiş olmasıdır. Bu çalışmada kullanılan ATR FTIR cihazı, geleneksel masaüstü ATR FTIR cihazı olarak sınıflandırılmaktadır. Bu tür spektroskopi cihazların normalde mikroskoplu olmamasıyla birlikte, doğru bir analiz sonucu elde edebilmesi için cihazın numune bölmesinde ancak sadece analiz edilecek parçacığın bulunması gerekmektedir (parçacığın filtre üzerindeyken analiz edilmesi mümkün değildir). Bunun sonucu olarak, parçacıkların cihazda analiz edilebilmesi için, bu parçacıkların her biri cihaz numune bölmesine aktarılması ve filtre kâğıdı ile numune bölmesi arasındaki transfer işlemi manuel olarak yapılması zorunlu kılınmıştır. 200 µm'den küçük parçacıkların manuel transferi sırasında zorluklarla karşılaşmıştır. Bu parçacıkların çok küçük olması, işlem sırasında parçacığı düşmeden veya kaybolmadan ATR FTIR cihazının numune bölmesine cımbız kullanarak elle aktarılmasını neredeyse imkânsız hale getirmektedir. Bu nedenle de mikroskopik inceleme ve ATR FTIR analizi sırasında sadece 200 µm'den büyük parçacıkları kaydedilmiştir. Dolayısıyla, midye tarafından alınabilecek ve 200 µm altındaki tüm parçacıkları ihmal edilmiş ve nihai sonuçlara dahil edilmemiştir. Diğer yandan, bu çalışmadan çok daha yüksek sonuçlar veren bazı diğer çalışmalara bakıldığında, (Li et al., 2015, 2016) çalışmalarında 250 µm'den küçük parçacıklar en yaygın tespit edilen boyut aralığı olmuştur. Ayrıca, (Digka et al., 2018) çalışmasında 100-500 µm boyut aralığındaki parçacıkları en çok rastlanan boyut aralığı olarak rapor edilmiştir.

Herhalde, (Sparks et al., 2021) çalışmasıyla karşılaştırıldığında, bu çalışmanın gram başına mikroplastik kontaminasyon değeri çok daha yüksektir. Gözlenen farklılıklar, farklı midye örnekleme ve işleme stratejilerinin uygulanmasından veya farklı kirlilik seviyelerine sahip çeşitli örnekleme alanlarının kullanılmasından kaynaklanıyor olabilmektedir.

Yapılan bu çalışmada, 1000 µm'den küçük parçacıklar, tespit edilen toplam parçacıkların %45'ini oluşturan en yaygın boyut grubu olmuştur. Bu bulgu, (Gedik ve Eryaşar, 2020; Sparks et al., 2021; Gedik et al., 2022) gibi diğer çalışmaların bulgularıyla uyumludur. (Gedik ve Eryaşar, 2020; Gedik et al., 2022) çalışmalarında en yaygın boyut grubu 1000 µm'den küçük parçacıkları olduğunu rapor edilmiştir. (Sparks et al., 2021) çalışmasında ise, en çok rastlanan boyut grubu 2000 µm'den

küçük parçacıklar olarak kabul edilmiştir. Ancak, mevcut çalışma için en yaygın mikroplastik boyutu, (Li et al., 2015, 2016) gibi diğer çalışmalarda bildirilen değerlerden daha büyüktür. Bu farklılıklar, daha önce açıklandığı gibi, bu çalışmada 200 µm'den küçük parçacıkların ihmal edilmesinden, ayrıca, Li ve arkadaşlarının çalışmasında mevcut çalışmadan farklı yöntem ve metot kullanılmasından kaynaklıyor olabilmektedir ((Li et al., 2015, 2016) daha düşük mikron aralığındaki parçacıkları tespit edebilen µ-FTIR kullanırken, bu çalışmada daha büyük boyutlu parçacıklar için daha uygun olan ATR FTIR yöntemi kullanılmıştır).

Bu çalışmada PA (%38,33) tespit edilen en yaygın polimer türü olmuştur. Bu sonuç yapılan diğer çalışmalardan farklıdır. (Sparks et al., 2021; Gedik ve Eryaşar, 2020; Gedik et al., 2022) çalışmalarında PET en yaygın polimer türü olarak rapor edilirken, (Li et al., 2015; Digka et al., 2018; Wakkaf et al., 2020) PE en yaygın polimer türü olduğunu bulmuşlardır. (Li et al., 2015) çalışmasında polimer tanımlaması için µ-FTIR kullanılmış ve elde edilen parçacıkların yalnızca bir kısmını analiz edilmiştir. Benzer şekilde, (Digka et al., 2018) çalışmasında yutulan mikroplastiklerin sadece %20'si FTIR ile analiz edilmiştir. Mevcut çalışmada görsel saptamadan elde edilen parçacıkların tamamını ATR FTIR ile doğrulanmıştır. Tespit edilen parçacıkların tamamını analiz edilmediğinde, sonuçlar yalnızca polimer türü doğrulanan fraksiyonu temsil etmektedir. Ayrıca, farklı numune alma alanlarından gelen farklı kirlenme seviyeleri ve çeşitli plastik atık türleri, o bölgede tespit edilen mikroplastik türlerinde farklılıklara yol açabilmektedir. Örneklerde yaygın bulunan ve normalde halat ve misina yapımında kullanılan naylon veya PA, muhtemelen örnekleme bölgesinde yaygın olan balıkçılık, deniz taşımacılığı ve denizcilik faaliyetlerinde kullanılan ip ve halatlarından kaynaklanmıştır.

Mevcut çalışmada, filmler (%43,33) en yaygın saptanan mikroplastik şekli olarak hesaplanmıştır. Yine de (Li et al., 2015, 2016; Wakkaf et al., 2020; Gedik et al., 2022) gibi midyelerde yapılan çoğu çalışma, filmlerden daha yüksek fibril oranı bildirmektedir. Öte yandan, (Digka et al., 2018; Gedik ve Eryaşar, 2020; Sparks et al., 2021) gibi diğer çalışmalar, fragmanların en yaygın mikroplastik şekil olduğunu bildirmişlerdir. Çalışmalar arasında yutulan mikroplastiklerin şekil kategorilerindeki farklılığı, farklı kontaminasyon kaynaklara ve atık yönetimi stratejilerine bağlanabilmektedir (Rochman et al., 2015). İstanbul Boğazı'ndaki (mevcut çalışmanın örneklerinin toplandığı yer) plastik çöp giriş türleri ve atık yönetimi uygulamaları,

diğer araştırmalardaki örnekleme yerlerinden farklı olabilmektedir. Buna ek olarak, kıyı şeritlerindeki turizm ve rekreasyon faaliyetleri de söz konusu konumdaki plastik çöpün bileşiminde rol oynayacaktır (Vlachogianni et al., 2017). Film olarak sınıflandırılan mikroplastikler muhtemelen ambalaj ve plastik poşetlerin kırılmasının sonucudur (Castro et al. 2016). Boğazdaki balıkçılık ve diğer deniz faaliyetleri, hepsi kolayca kırılarak filmler de dahil olmak üzere farklı türde mikroplastik şekilleri oluşturabilen misinaların, balık ağlarının ve diğer balıkçılık ekipmanlarının yoğun şekilde kullanılmasını gerektirmektedir. Mikroplastiklerin farklı şekilleri, çeşitli kirlilik kaynaklarından gelebilir ve daha büyük plastik parçacıkların parçalanmasının bir sonucu olarak oluşabilmektedir. Bu çalışmada pelet şeklinde hiçbir mikroplastik bulunamamıştır. Bu sonuç, sonuçlarında pelet bildirmeyen (Gedik ve Eryaşar, 2020; Sparks et al., 2021) çalışmalarının bulgularıyla uyumludur.

Bununla beraber, farklı sıvı ve solüsyonların farklı gereçler arasında transferi sırasında (santrifüj tüpleri, beherler, erlenler... vs.), mikroplastik parçacıkların bu gereçlerin duvarına yapışması nedeniyle, özellikle küçük boyutlara sahip mikroplastiklerin kaybına neden olabileceğini de belirtmek önemlidir.

Yukarıdaki tartışma sırasında, farklı çalışmalarda elde edilen sonuçlar ve değerler arasında açık bir fark ve çeşitlilik olduğu göze çarpmaktadır. Mikroplastik izolasyon ve tanımlama yöntemleri arasındaki farklılıkların, aynı tipte test edilen numunelerde mikroplastik varlığındaki farka çok katkıda bulunabilmektedir. Farklı çalışmalarda farklı sindirim yöntemleri kullanılmıştır. Örneğin, %69 nitrik asit kullanan (Van Cauwenberghe et al., 2015) ve %30 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> kullanan (Li et al., 2015, 2016) gibi bazı araştırmalarda, midye dokusunu sindirmek için asidik sindirim yaklaşımını kullanılmıştır. (Wakkaf et al., 2020; Sparks et al., 2021) ve mevcut çalışma gibi diğer çalışmalarda ise, baz sindirim solüsyonları (%10 KOH) kullanılmıştır. Ayrıca, farklı çalışmalarda midyenin farklı kısımlarını teşrih ederek incelenmesini bildirilmiştir. Bunun bir örneği, mikroplastiklerin varlığı için yalnızca midyelerin solungaç ve sindirim bezini inceleyen (Digka et al., 2018; Zhao et al., 2018) çalışmalarıdır. Bu spesifik organların midye dokusunun geri kalanından daha fazla mikroplastik parçacık içermesi muhtemel olduğundan, bu tür çalışmalarda rapor edilen sonuçların, mevcut çalışma gibi tüm midye dokularını inceleyen diğer çalışmalardan daha yüksek olması normaldir. Bundan başka, sonuçların raporlanmasında uyumsuzluk vardır. Bazı çalışmalar mikroplastik içeriği birey başına

parçacık sayısı olarak bildirirken, diğerleri bu parçacıkların doku ağırlığı başına prevalansını sadece mikroplastik içeren bireylerde rapor edebilir (Digka et al., 2018), veya bu çalışmada gibi incelenen tüm bireylerde bu parçacıkların yaygınlığını bildirebilmektedir. Aynı tür üzerinde yapılan çalışmalar arasında bildirilen mikroplastik alımındaki farklılıklar, çalışma alanları arasındaki mikroplastik kontaminasyonunda gerçek farklılıklardan da kaynaklanıyor olabilmektedir. Yoğun nüfuslu ve kentleşmiş plajların veya yoğun balıkçılık faaliyetlerinin yakınındaki alanlar genellikle diğerlerinden daha yüksek kirlilik seviyeleri göstermektedir. Oranlar arasındaki fark, farklı örnekleme zamanları, araştırma bölgeleri ve örneklenen yerlerin sayısından da kaynaklanıyor olabilir. Çalışmalar arasında göze çarpan bir başka fark da mikroskobik inceleme sırasında tespit edilen tüm parçacıkların, polimer tanımlaması sırasında tüm çalışmalarda doğrulanmamış olmasıdır. Örneğin, (Li et al., 2016) görsel olarak tanımlanmış 1519 parçacığın yalnızca 129'unu (%8,49)  $\mu$ -FTIR kullanarak analiz ederken, (Sparks et al., 2021) çalışmasında, ATR FTIR kullanarak görsel olarak tanımlanmış 805 parçacığın yalnızca 31'ini (%3,86) analiz edilmiştir. Bu, doğrulanmayan parçacıkların hepsinin gerçekten de plastik nitelikte olmayabileceği düşünüldüğünde, sonuçların olduğundan fazla tahmin edilmesine yol açabilmektedir. Bu aynı zamanda, tespit edilen tüm parçacıkları temsil etmeyen polimer türü tahminlere de yol açacaktır, çünkü yalnızca doğrulanmış parçacıkların polimer türleri rapor edilmiş ve başka polimer türleri doğrulanmayanlar arasında mevcut olabilirdi. Bu tür farklılıklar, farklı çalışmalar arasındaki mikroplastik kirlilik seviyelerinin karşılaştırılmasını oldukça zorlaştırmaktadır.

Sonuç olarak, bu tez çalışmasında incelenen midye numunelerinde mikroplastik kontaminasyonu tespit edilmiştir. Bu durum, İstanbul Boğazı'ndaki plastik kirliliğinin ciddiyetini kanıtlamaktadır. Denizde atılan plastik döküntü seviyelerinin düşürülmesi için hem bireylerin hem de sorumlu makamların mümkün olan her önlemin alınması ve bu konuya gerekli ilgiyi göstermesi gerekmektedir. Bu çalışmada tespit edilen mikroplastik kirlilik seviyeleri çok endişe verici olmayabilir. Ancak dünyada denizlerde atılan plastik atıkların her yıl milyonlarca ton arttığı dikkate alındığında, önümüzdeki dönemde tüm dünyada ve özellikle denizlerde plastik kirlilik sorununun daha kritik hale gelmesi muhtemeldir. Bununla birlikte, deniz canlılarında mikroplastik alınma miktarlarını doğru bir şekilde tahmin etmek ve çalışmalar arasındaki karşılaştırılabilirliği geliştirmek için, mikroplastik izolasyon ve tanımlamasında

kullanılan teknikleri uyumlaştırmaya acil bir ihtiyaç vardır. Mikroplastik izolasyonu ve tanımlanması ve çalışma sonuçlarının daha sonra karşılaştırılmasını kolaylaştıracak daha verimli ve uluslararası standartlaştırılmış prosedürlerin geliştirilmesi oldukça önemlidir.



## VIII. KAYNAKÇA

### KİTAPLAR

DA COSTA, J. P., DUARTE, A. C. ve ROCHA-SANTOS, T. A. (2017). "Microplastics -Occurrence, Fate and Behaviour in the Environment", In: ROCHA-SANTOS, T. A. ve DUARTE, A. C. **Characterization and Analysis of Microplastics**, ss.1-20, Elsevier.

GALLOWAY, T. S. (2015). "Micro- and Nano-plastics and Human Health", In: BERGMANN, M.; GUTOW, L. ve KLAGES, M. (eds). **Marine Anthropogenic Litter**, ss.343-366, Springer, Cham.

LÖDER, M. C. J. and GERDTS, G. (2015). "Methodology Used for the Detection and Identification of Microplastics — A Critical Appraisal", In: BERGMANN, M.; GUTOW, L. ve KLAGES, M. (eds). **Marine Anthropogenic Litter**, ss.201-227, Springer, Cham.

LUSHER, A. (2015). "Microplastics in The Marine Environment: Distribution, Interactions and Effects", In: BERGMANN, M.; GUTOW, L. ve KLAGES, M. (eds). **Marine Anthropogenic Litter**, ss.245-307, Springer, Cham.

RENNER, G., SCHMIDT, T. C. ve SCHRAM, J. (2017). "Characterization and Quantification of Microplastics by Infrared Spectroscopy", In: ROCHA-SANTOS, T. A. ve DUARTE, A. C. **Characterization and Analysis of Microplastics**, ss.67-118, Elsevier.

ROCHMAN, C. M. (2015). "The Complex Mixture, Fate and Toxicity of Chemicals Associated with Plastic Debris in the Marine Environment.", In: BERGMANN, M.; GUTOW, L. ve KLAGES, M. (eds). **Marine Anthropogenic Litter**, ss.117-140, Springer, Cham.

### MAKALELER

AKINDELE, E. O., EHLERS, S. M. ve KOOP, J. H. (2020). "Freshwater Insects of Different Feeding Guilds Ingest Microplastics in Two Gulf of Guinea

Tributaries in Nigeria.", **Environmental Science and Pollution Research**, cilt 27, sayı 26, ss.33373-33379.

ALMEIDA, E., DIAMANTINO, T. C. ve DE SOUSA, O. (2007). "Marine Paints: the Particular Case of Antifouling Paints.", **Progress in Organic Coatings**, cilt 59, sayı 1, ss.2-20.

AVIO, C. G., GORBI, S., MILAN, M., BENEDETTI, M., FATTORINI, D., D'ERRICO, G., PAULETTO, M., BARGELLONI, L. ve REGOLI, F. (2015). "Pollutants Bioavailability and Toxicological Risk from Microplastics to Marine Mussels", **Environmental Pollution**, cilt 198, ss.211–222.

AVIO, C. G., CARDELLI, L. R., GORBI, S., PELLEGRINI, D. ve REGOLI, F. (2017). "Microplastics Pollution After the Removal of the Costa Concordia Wreck: First Evidences from a Biomonitoring Case Study", **Environmental Pollution**, cilt 227, ss.207-214.

BARNES, D. K., GALGANI, F., THOMPSON, R. C. ve BARLAZ, M. (2009). "Accumulation and Fragmentation of Plastic Debris in Global Environments.", **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, cilt 364, sayı 1526, ss.1985-1998.

BERNSTEN, P., PARK, C. Y., ROTHEN-RUTISHAUSER, B., TSUDA, A., SAGER, T. M., MOLINA, R. M., DONAGHEY, T. C., ALENCAR, A. M., KASAHARA, D. I., ERICSSON, T., MILLET, E. J., SWENSON, J., TSCHUMPERLIN, D. J., BUTLER, J. P., BRAIN, J. D., FREDBERG, J. J., GEHR, P. ve ZHOU, E. H. (2010). Biomechanical Effects of Environmental and Engineered Particles on Human Airway Smooth Muscle Cells.", **Journal of the Royal Society Interface**, cilt 7, sayı 3, ss.331-340.

BOUWMEESTER, H., HOLLMAN, P. C. ve PETERS, R. J. (2015). "Potential Health Impact of Environmentally Released Micro-and Nanoplastics in the Human Food Production Chain: Experiences from Nanotoxicology.", **Environmental Science & Technology**, cilt 49, sayı 15, ss.8932-8947.

BROWN, D. M., WILSON, M. R., MACNEE, W., STONE, V. ve DONALDSON, K. (2001). "Size-dependent Proinflammatory Effects of Ultrafine Polystyrene Particles: A Role for Surface Area and Oxidative Stress in the Enhanced

Activity of Ultrafines.", **Toxicology and Applied Pharmacology**, cilt 175, sayı 3, ss.191-199.

CARR, K. E., SMYTH, S. H., MCCULLOUGH, M. T., MORRIS, J. F. ve MOYES, S. M. (2012). "Morphological Aspects of Interactions Between Microparticles and Mammalian Cells: Intestinal Uptake and Onward Movement.", **Progress in Histochemistry and Cytochemistry**, cilt 46, sayı 4, ss.185-252.

CASTRO, R. O., SILVA, M. L., MARQUES, M. R. C. ve DE ARAUJO, F. V. (2016). "Evaluation of Microplastics in Jurujuba Cove, Niterói, RJ, Brazil, An Area of Mussels Farming.", **Marine Pollution Bulletin**, cilt 110, sayı 1, ss.555-558.

COLE, M., LINDEQUE, P., FILEMAN, E., HALSBAND, C., GOODHEAD, R., MOGER, J. ve GALLOWAY, T. S. (2013). "Microplastic Ingestion by Zooplankton.", **Environmental Science & Technology**, cilt 47, sayı 12, ss.6646-6655.

DAVIDSON, K. and DUDAS, S. E. (2016). "Microplastic Ingestion by Wild and Cultured Manila Clams (*Venerupis philippinarum*) from Baynes Sound, British Columbia.", **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, cilt 71, sayı 2, ss.147-156.

DEHAUT, A., CASSONE, A. L., FRÉRE, L., HERMABESSIERE, L., HIMBER, C., RINNERT, E., RIVIÉRE, G., LAMBERT, C., SOUDANT, P., HUVET, A. ve Paul-Pont, I. (2016). "Microplastics in Seafood: Benchmark Protocol for Their Extraction and Characterization.", **Environmental Pollution**, cilt 215, ss.223-233.

DENG, Y., ZHANG, Y., LEMOS, B. ve REN, H. (2017). "Tissue Accumulation of Microplastics in Mice and Biomarker Responses Suggest Widespread Health Risks of Exposure.", **Scientific Reports**, cilt 7, sayı 1, ss.1-10.

DIGKA, N., TSANGARIS, C., TORRE, M., ANASTASOPOULOU, A. ve ZERI, C. (2018). "Microplastics in Mussels and Fish From the Northern Ionian Sea.", **Marine Pollution Bulletin**, cilt 135, ss.30-40.

- EFSA. (2016). "Statement on the Presence of Microplastics and Nanoplastics in Food, with Particular Focus on Seafood.", **EFSA Journal 2016 (EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain)**, cilt 14, sayı 6:4501, ss.30, doi: 10.2903/j.efsa.2016.4501
- ENGLER, R. E. (2012). "The Complex Interaction Between Marine Debris and Toxic Chemicals in the Ocean.", **Environmental Science & Technology**, cilt 46, sayı 22, ss.12302-12315.
- FRIES, E., DEKIFF, J. H., WILLMEYER, J., NUELLE, M. T., EBERT, M. ve REMY, D. (2013). "Identification of Polymer Types and Additives in Marine Microplastic Particles Using Pyrolysis-GC/MS and Scanning Electron Microscopy.", **Environmental Science: Processes & Impacts**, cilt 15, sayı 10, ss.1949-1956.
- FRÖHLICH, E., SAMBERGER, C., KUEZNIK, T., ABSENGER, M., ROBLEGG, E., ZIMMER, A. ve PIEBER, T. R. (2009). "Cytotoxicity of Nanoparticles Independent from Oxidative Stress.", **The Journal of Toxicological Sciences**, cilt 34, sayı 4, ss.363-375.
- GEDİK, K. ve ERYAŞAR, A. R. (2020). "Microplastic Pollution Profile of Mediterranean Mussels (*Mytilus galloprovincialis*) Collected Along the Turkish Coasts.", **Chemosphere**, cilt 260, ss.127570.
- GEDİK, K., ERYAŞAR, A. R. ve GÖZLER, A. M. (2022). "The Microplastic Pattern of Wild-caught Mediterranean Mussels from the Marmara Sea.", **Marine Pollution Bulletin**, cilt 175, ss.113331.
- GEISER, M., ROTHEN-RUTISHAUSER, B., KAPP, N., SCHÜRCH, S., KREYLING, W., SCHULZ, H., SEMMLER, M., HOF, V. I., HEYDER, J. ve GEHR, P. (2005). "Ultrafine Particles Cross Cellular Membranes by Nonphagocytic Mechanisms in Lungs and in Cultured Cells.", **Environmental Health Perspectives**, cilt 113, sayı 11, ss.1555-1560.
- GOUIN, T., ROCHE, N., LOHMANN, R. ve HODGES, G. (2011). "A Thermodynamic Approach for Assessing the Environmental Exposure of Chemicals Absorbed to Microplastic.", **Environmental Science & Technology**, cilt 45, sayı 4, ss.1466-1472.

- GÜNDOĞDU, S., ÇEVİK, C. ve ATAŞ, N. T. (2020). "Stuffed With Microplastics: Microplastic Occurrence in Traditional Stuffed Mussels Sold in the Turkish Market.", **Food Bioscience**, cilt 37, ss.100715.
- HALDEN, R. U. (2010). "Plastics and Health Risks.", **Annual Review of Public Health**, cilt 31, ss.179-194.
- HARTMANN, N. B., RIST, S., BODIN, J., JENSEN, L. H., SCHMIDT, S. N., MAYER, P., MEIBOM, A. ve BAUN, A. (2017). "Microplastics as Vectors for Environmental Contaminants: Exploring Sorption, Desorption, and Transfer to Biota.", **Integrated Environmental Assessment and Management**, cilt 13, sayı 3, ss.488-493.
- HERMSEN, E., MINTENIG, S. M., BESSELING, E. ve KOELMANS, A. A. (2018). "Quality Criteria for the Analysis of Microplastic in Biota Samples: A Critical Review.", **Environmental Science & Technology**, cilt 52, sayı 18, ss.10230-10240.
- HOORNWEG, D. and BHADA-TATA, P. (2012). "What a Waste. A Global Review of Solid Waste Management.", **World Bank Urban Development Series**, cilt 15, ss.98.
- HORTON, A. A., SVENDSEN, C., WILLIAMS, R. J., SPURGEON, D. J. ve LAHIVE, E. (2017). "Large Microplastic Particles in Sediments of Tributaries of the River Thames, UK—Abundance, Sources and Methods for Effective Quantification.", **Marine Pollution Bulletin**, cilt 114, sayı 1, ss.218-226.
- HUSSAIN, N., JAITLEY, V. ve FLORENCE, A. T. (2001). "Recent Advances in the Understanding of Uptake of Microparticulates Across the Gastrointestinal Lymphatics.", **Advanced Drug Delivery Reviews**, cilt 50, ss.107-142.
- JANG, M., SHIM, W. J., HAN, G. M., RANI, M., SONG, Y. K. ve HONG, S. H. (2016). "Styrofoam Debris as a Source of Hazardous Additives for Marine Organisms.", **Environmental Science & Technology**, cilt 50, sayı 10, ss.4951-4960.
- KARAMI, A., GOLIESKARDI, A., CHOO, C. K., ROMANO, N., HO, Y. B. ve SALAMATINIA, B. (2017). "A High-performance Protocol for Extraction of

Microplastics in Fish.", **Science of the Total Environment**, cilt 578, ss.485-494.

KÜHN, S., VAN WERVEN, B., VAN OYEN, A., MEIJBOOM, A., REBOLLEDO, E. L. B. ve VAN FRANEKER, J. A. (2017). "The Use of Potassium Hydroxide (KOH) Solution as a Suitable Approach to Isolate Plastics Ingested by Marine Organisms.", **Marine Pollution Bulletin**, cilt 115, sayı 1-2, ss.86-90.

KWON, H. J., HIDAYATURRAHMAN, H., PEERA, S. G. ve LEE, T. G. (2022). "Elimination of Microplastics at Different Stages in Wastewater Treatment Plants", **Water**, cilt 14, sayı 15, ss.2404.

LAFFERTY, K. D., HARVELL, C. D., CONRAD, J. M., FRIEDMAN, C. S., KENT, M. L., KURIS, A. M., POWELL, E. N., RONDEAU, D. ve SAKSIDA, S. M. (2015). "Infectious Diseases Affect Marine Fisheries and Aquaculture Economics.", **Annual Review of Marine Science**, cilt 7, ss.471-496.

LENZ, R., ENDERS, K., STEDMON, C. A., MACKENZIE, D. M. ve NIELSEN, T. G. (2015). "A Critical Assessment of Visual Identification of Marine Microplastic Using Raman Spectroscopy for Analysis Improvement.", **Marine Pollution Bulletin**, cilt 100, sayı 1, ss.82-91.

LI, J., YANG, D., LI, L., JABEEN, K. ve SHI, H. (2015). "Microplastics in Commercial Bivalves from China.", **Environmental Pollution**, cilt 207, ss.190-195.

LI, J., QU, X., SU, L., ZHANG, W., YANG, D., KOLANDHASAMY, P., LI, D. ve SHI, H. (2016). "Microplastics in Mussels Along the Coastal Waters of China.", **Environmental Pollution**, cilt 214, ss.177-184.

LIEBEZEIT, G. and LIEBEZEIT, E. (2013). "Non-pollen Particulates in Honey and Sugar.", **Food Additives & Contaminants: Part A**, cilt 30, sayı 12, ss.2136-2140.

LIEBEZEIT, G. and LIEBEZEIT, E. (2015). "Origin of Synthetic Particles in Honeys.", **Polish Journal of Food and Nutrition Sciences**, cilt 65, sayı 2.

- LUSHER, A. L., O'DONNELL, C., OFFICER, R. ve O'CONNOR, I. (2016). "Microplastic Interactions With North Atlantic Mesopelagic Fish.", **ICES Journal of Marine Science**, cilt 73, sayı 4, ss.1214-1225.
- LUSHER, A. L., HOLLMAN, P. C. H. ve MENDOZA-HILL, J. J. (2017a). "Microplastics in Fisheries and Aquaculture: Status of Knowledge on Their Occurrence and Implications for Aquatic Organisms and Food Safety", **FAO Fisheries and Aquaculture Technical Paper**, sayı. 615, Rome, Italy.
- LUSHER, A. L., WELDEN, N. A., SOBRAL, P. ve COLE, M. (2017b). "Sampling, Isolating and Identifying Microplastics Ingested by Fish and Invertebrates.", **Analytical Methods**, cilt 9, sayı 9, ss.1346–1360.
- NAPPER, I. E., BAKIR, A., ROWLAND, S. J. ve THOMPSON, R. C. (2015). "Characterisation, Quantity and Sorptive Properties of Microplastics Extracted from Cosmetics.", **Marine Pollution Bulletin**, cilt 99, sayı 1-2, ss.178-185.
- NUELLE, M. T., DEKIFF, J. H., REMY, D. ve FRIES, E. (2014). "A New Analytical Approach for Monitoring Microplastics in Marine Sediments.", **Environmental Pollution**, cilt 184, ss.161-169.
- QIU, Q., PENG, J., YU, X., CHEN, F., WANG, J. ve DONG, F. (2015). "Occurrence of Microplastics in the Coastal Marine Environment: First Observation on Sediment of China.", **Marine Pollution Bulletin**, cilt 98, sayı 1-2, ss.274-280.
- ROCHMAN, C. M., TAHIR, A., WILLIAMS, S. L., BAXA, D. V., LAM, R., MILLER, J. T., TEH, F., WERORILANGI, S. ve TEH, S. J. (2015). "Anthropogenic Debris in Seafood: Plastic Debris and Fibers from Textiles in Fish and Bivalves Sold for Human Consumption.", **Scientific Reports**, cilt 5, sayı 1, ss.1-10.
- RUMMEL, C. D., LÖDER, M. G., FRICKE, N. F., LANG, T., GRIEBELER, E. M., JANKE, M. ve GERDTS, G. (2016). "Plastic Ingestion by Pelagic and Demersal Fish from the North Sea and Baltic Sea.", **Marine Pollution Bulletin**, cilt 102, sayı 1, ss.134-141.

- SANTANA, M. F. M., ASCER, L.G., CUSTÓDIO, M. R., MOREIRA, F. T. ve TURRA, A. (2016). "Microplastic Contamination in Natural Mussel Beds from a Brazilian Urbanized Coastal Region: Rapid Evaluation Through Bioassessment.", **Marine Pollution Bulletin**, cilt 106, sayı 1-2, ss.183-189.
- SAVOCA, M. S., WOHLFEIL, M. E., EBELER, S. E., ve NEVITT, G. A. (2016). "Marine Plastic Debris Emits A Keystone Infochemical for Olfactory Foraging Seabirds", **Science Advances**, cilt 2, sayı 11.
- SCHMIDT, C., LAUTENSCHLAEGER, C., COLLONOT, E. M., SCHUMANN, M., BOJARSKI, C., SCHULZKE, J. D., LEHR, C. M. ve STALLMACH, A. (2013). "Nano-and microscaled Particles for Drug Targeting to Inflamed Intestinal Mucosa — A First in Vivo Study in Human Patients.", **Journal of Controlled Release**, cilt 165, sayı 2, ss.139-145.
- SNOUSSI, M., NOUMI, E., HAJLAOUI, H., USAI, D., SECHI, L. A., ZANETTI, S. ve BAKHROUF, A. (2009). "High Potential of Adhesion to Abiotic and Biotic Materials in Fish Aquaculture Facility by *Vibrio Alginolyticus* Strains.", **Journal of Applied Microbiology**, cilt 106, sayı 5, ss.1591-1599.
- SONG, Y. K., HONG, S. H., JANG, M., HAN, G. M., RANI, M., LEE, J. ve SHIM, W. J. (2015). "A Comparison of Microscopic and Spectroscopic Identification Methods for Analysis of Microplastics in Environmental Samples.", **Marine Pollution Bulletin**, cilt 93, sayı 1-2, ss.202-209.
- SPARKS, C., AWE, A. ve MANEVELD, J. (2021). "Abundance and Characteristics of Microplastics in Retail Mussels from Cape Town, South Africa.", **Marine Pollution Bulletin**, cilt 166, ss.112186.
- TANAKA, K. and TAKADA, H. (2016). "Microplastic Fragments and Microbeads in Digestive Tracts of Planktivorous Fish from Urban Coastal Waters.", **Scientific Reports**, cilt 6, sayı 1, ss.1-8.
- TEUTEN, E. L., SAQUING, J. M., KNAPPE, D. R., BARLAZ, M. A., JONSSON, S., BJÖRN, A., ROWLAND, S. J., THOMPSON, R. C., GALLOWAY, T. S., YAMASHITA, R. ve OCHI, D. (2009). "Transport and Release of Chemicals from Plastics to the Environment and to Wildlife.", **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, cilt 364, sayı 1526, ss.2027-2045.



- TOMAZIC-JEZIC, V. J., MERRITT, K. ve UMBREIT, T. H. (2001). "Significance of the Type and the Size of Biomaterial Particles on Phagocytosis and Tissue Distribution.", **Journal of Biomedical Materials Research**, cilt 55, sayı 4, ss.523-529.
- VAN CAUWENBERGHE, L. and JANSSEN, C. R. (2014). "Microplastics in Bivalves Cultured for Human Consumption.", **Environmental Pollution**, cilt 193, ss.65-70.
- VAN CAUWENBERGHE, L., CLASSENS, M., VANDEGEHUCHTE, M. B. ve JANSSEN, C. R. (2015). "Microplastics Are Taken Up by Mussels (*Mytilus edulis*) and Lugworms (*Arenicola marina*) Living in Natural Habitats.", **Environmental Pollution**, cilt 199, ss.10-17.
- VOLKHEIMER, G. (1975). "Hematogenous Dissemination of Ingested Polyvinyl Chloride Particles.", **Annals of The New York Academy of Sciences**, cilt 246, ss.164-171.
- WAKKAF, T., EL ZRELLI, R., KEDZIERSKI, M., BALTI, R., SHAIK, M., MANSOUR, L., TLIG-ZOUARI, S., BRUZAUD, S. ve RABAOUI, L. (2020). "Microplastics in Edible Mussels from a Southern Mediterranean Lagoon: Preliminary Results on Seawater-mussel Transfer and Implications for Environmental Protection and Seafood Safety.", **Marine Pollution Bulletin**, cilt 158, ss.111355.
- WICK, P., CLIFT, M. J., RÖSSLEIN, M. ve ROTHEN-RUTHISHAUSER, B. (2011). "A Brief Summary of Carbon Nanotubes Science and Technology: A Health and Safety Perspective.", **ChemSusChem**, cilt 4, sayı 7, ss.905-911.
- WRIGHT, S. L. and KELLY, F. J. (2017). "Plastic and Human Health: A Micro Issue?", **Environmental Science & Technology**, cilt 51, sayı 12, ss.6634-6647.
- YANG, D., SHI, H., LI, L., LI, J., JABEEN, K. ve KOLANDHASAMY, P. (2015). "Microplastic Pollution in Table Salts from China.", **Environmental Science & Technology**, cilt 49, sayı 22, ss.13622-13627.
- YOO, J. W., DOSHI, N. ve MITRAGOTRI, S. (2011). "Adaptive Micro and Nanoparticles: Temporal Control Over Carrier Properties to Facilitate Drug

Delivery.", **Advanced Drug Delivery Reviews**, cilt 63, sayı 14-15, ss.1247-1256.

YOZUKMAZ, A. (2021). "Investigation of Microplastics in Edible Wild Mussels from İzmir Bay (Aegean Sea, Westesn Turkey): A Risk Assessment for the Consumers.", **Marine Pollution Bulletin**, cilt 171, ss.112733.

YU, X., PENG, J., WANG, J., WANG, K. ve BAO, S. (2016). "Occurrence of Microplastics in the Beach Sand of the Chinese Inner Sea: the Bohai Sea.", **Environmental Pollution**, cilt 214, ss.722-730.

ZETTLER, E. R., MINCER, T. J. ve AMARAL-ZETTLER, L. A. (2013). "Life in the "Plastisphere": Microbial Communities on Plastic Marine Debris.", **Environmental Science & Technology**, cilt 47, sayı 13, ss.7137-7146.

ZHAO, S., WARD, J. E., DANLEY, M. ve MINCER, T. J. (2018). "Field-based Evidence for Microplastic in Marine Aggregates and Mussels: Implications for Trophic Transfer.", **Environmental Science & Technology**, cilt 52, sayı 19, ss.11038-11048.

## **ELEKTRONİK KAYNAKLAR**

PLASTICSEUROPE. (2016). "Plastics – the Facts 2016", <https://plasticseurope.org/>, (Erişim Tarihi: 1 Kasım 2016)

PLASTICSEUROPE. (2022). "Plastics – the Facts 2022", <https://plasticseurope.org/>, (Erişim Tarihi: 12 Kasım 2022)

## **TEZLER**

ANTUNES, F. A. P. (2014). "Ship Transport of Marine Invasive Species and Its Stress Resistance", (Doktora tezi), Evora Üniversitesi (Portekiz).

KARADEMİR, F. (2018). "İstanbul'da Tüketime Sunulan Midye Dolmaların Mikrobiyolojik Kalitesinin Belirlenmesi", (Yüksek lisans tezi), Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul Üniversitesi.

## **DİĞER KAYNAKLAR**

ALPER, N., SÖYLEMEZ, G., ALTUNKAYNAK, T. B., ALÇAGÖZ, Y., ALTAY, Ş., AKSAKAL, D. H., BEKTAŞ, G. I., ÇETİNKAYA, A. A., BİLGİN ÇINAR, S., ÇINAR, T., DOKUMACI, S., ERBİL, N., ERKİ, U., KAYHAN,

E., KAYRAN, S., KILIÇ, D., KILINÇ, A., KUYUCU, S., ŞENER, S. Y., ŞENOL, N. Ö. ve ERGÜL UĞRAŞ, M. (2018). "Kimyasal ve Fiziksel Analizlerde Metot Validasyonu/Verifikasyonu Rehberi", T.C. Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı, Gıda ve Kontrol Genel Müdürlüğü, ss.42-47.

FAO. (2014). The State of World Fisheries and Aquaculture, 2014. Rome: 223.

GESAMP (2015). "Sources, Fate and Effects of Microplastics in The Marine Environment: A Global Assessment" (Kershaw, P. J., ed.). **(IMO/FAO/UNESCO-IOC/UNIDO/WMO/IAEA/UN/UNEP/UNDP Joint Group of Experts on the Scientific Aspects of Marine Environmental Protection)**. Rep. Stud. GESAMP, cilt 90, ss.96.

GESAMP (2016). "Sources, Fate and Effects of Microplastics in The Marine Environment: Part Two of a Global Assessment" (Kershaw, P.J., and Rochman, C.M., eds). **(IMO/FAO/UNESCO-IOC/UNIDO/WMO/IAEA/UN/UNEP/UNDP Joint Group of Experts on the Scientific Aspects of Marine Environmental Protection)**. Rep. Stud. GESAMP, cilt 93, ss.220.

VLACHOGIANNI, T., ANASTASOPOULOU, A., FORTIBUONI, T., RONCHI, F. ve ZERI, C. (2017). "Marine Litter Assessment in the Adriatic and Ionian Seas.", **IPA-Adriatic DeFishGear Project**, MIO-ECSDE, HCMR and ISPRA, ss.168.



## ÖZGEÇMİŞ

**Ad-Soyad** : Faruk GALYON

### ÖĞRENİM DURUMU:

- **Lisans** : 2011, Kalamoon Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Beslenme ve Gıda Bilimleri Bölümü
- **Yüksek Lisans** : 2017, İstanbul Aydın Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Güvenliği Bölümü

### YAYINLAR VE KONGRE BİLDİRİLERİ

- Galyon F., Ünver Alçay A., 2022. Microplastics, Nanoplastics in Fishery Products and Their Detection, Identification and Quantification Methods. *6th International New York Conference on Evolving Trends in Interdisciplinary Research & Practices*, 3-5 Nisan, 2022 New York, ABD.
- Galyon F., Varlık C., 2021. Probiyotikler, Prebiyotikler ve Bunların Bağırsak ve Cilt Sağlığı Üzerinde Etkileri. *Anadolu Bil Meslek Yüksekokulu Dergisi*, 16(64), 263-289.
- Sarıcı B., Galyon F., Ünver Alçay A., 2020. Food Ethics as a Global Problem. *5th International Conference on Agriculture, Animal Husbandry and Rural Development*, 13-15 Kasım, 2020 Ankara, Türkiye.
- Ghalyoun F., Ünver Alçay A., 2018. Investigation of Rotavirus, Adenovirus and Astrovirus in Mussels and Shrimps Using Multiplex Real-time PCR. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 24(5), 761-767.
- Ghalyoun F., Ünver Alçay A., 2017. Gıda Kaynaklı Viruslar. *Anadolu Bil Meslek Yüksekokulu Dergisi*, 12(46), 61-84.